



Universidade de Lisboa
Faculdade de Medicina Veterinária

**Parasitas intestinais e seu controlo numa população de equídeos estabulados
na Escola das Armas em Mafra, Portugal**

Ana Lúcia Alves Afonso

JURÍ:

Doutor Luís Manuel Madeira de Carvalho
Doutora Paula Alexandra Botelho Garcia
de Andrade Pimenta Tilley
Doutor Luís Ressano Garcia Pardon
Lamas

ORIENTADOR

Doutora Paula Alexandra Botelho Garcia de
Andrade Pimenta Tilley

CO-ORIENTADOR

Capitão Médico Veterinário Gonçalo José
Carmona Santana Paixão

2016

Lisboa



Universidade de Lisboa
Faculdade de Medicina Veterinária

**Parasitas intestinais e seu controlo numa população de equídeos estabulados
na Escola das Armas em Mafra, Portugal**

Ana Lúcia Alves Afonso

Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

JURÍ:

Doutor Luís Manuel Madeira de Carvalho
Doutora Paula Alexandra Botelho Garcia
de Andrade Pimenta Tilley
Doutor Luís Ressano Garcia Pardon
Lamas

ORIENTADOR

Doutora Paula Alexandra Botelho Garcia
de Andrade Pimenta Tilley

CO-ORIENTADOR

Capitão Médico Veterinário Gonçalo José
Carmona Santana Paixão

2016

Lisboa

Agradecimentos

À Professora Doutora Paula Tilley, por ter aceitado ser minha orientadora e por todos os conhecimentos transmitidos sobre Medicina equina.

Ao Capitão Médico Veterinário Gonçalo Paixão por ter aceitado ser meu co-orientador e por todos os ensinamentos. Assim como a todos os Médicos Veterinários do Hospital Militar de Equinos pela transmissão de conhecimentos sobre a prática clínica e de saberes acerca dos equinos em geral.

Às enfermeiras Sara Saraiva e Linda Silva, principalmente pela amizade e companheirismo.

Ao Professor Doutor Luís Madeira de Carvalho, um agradecimento especial por me ter acolhido na “família da parasitologia”, por todos os conhecimentos partilhados e indicações dadas. Também pela paciência, amizade e incentivo constantes no decorrer deste trabalho.

Ao Professor Telmo Nunes, pela simpatia e prestabilidade. Assim como, por toda a ajuda e conhecimentos transmitidos que possibilitaram o desenvolvimento da componente estatística deste estudo.

À colega, Dr^a Ana Lopes por toda a partilha de conhecimentos e de ensinamentos, essenciais à realização da componente prática deste estudo, mas também pela disponibilidade e amizade.

Aos amigos e colegas de curso, em especial à Joana que esteve presente em cada etapa, a minha companheira de todas as horas. Também ao Bruno e à Patrícia. E claro, a quem partilhou de forma mais próxima estes últimos anos de curso na FMV Lisboa: Rafaela, Elizabeth, Rita, Miguel e Catarina.

Aos meus pais e irmã: por terem acompanhado todo o meu percurso académico; por acreditarem sempre em mim, mesmo quando eu não acreditava e me apoiarem incessantemente; também por me terem tornado na pessoa que sou hoje e transmitirem valores essenciais para a minha vida.

Por fim, mas não menos importante, ao meu noivo, por compreender as ausências, apoiar no esforço, ter fé em mim e por me trazer o suporte emocional, sem o qual não teria sido possível terminar este curso.

RESUMO

Afonso, A. (2015). Parasitas intestinais e seu controlo numa população de equídeos estabulados na Escola das Armas em Mafra, Portugal

As recomendações quanto ao controlo parasitário referem a importância de substituir a abordagem tradicional, estratégica, por uma metodologia de desparasitação assente na vigilância. O principal objectivo deste estudo foi comparar os dois métodos de desparasitação, relativamente aos valores de OPG e à eficácia da ivermectina, através do Teste de Redução de Contagem de Ovos Fecais (TRCOF), e aos custos decorrentes de cada método. Assim, numa população de equinos estabulados, existente na Escola de Armas em Mafra, foi delineado um estudo parasitológico em que se formaram 3 grupos: um grupo em que foi efetuada desparasitação seletiva, estabelecendo como *cut-off* para a desparasitação o valor de 200 ovos por grama de fezes (OPG); um grupo em que era realizada desparasitação estratégica; e outro grupo, de controlo, cujos animais não foram desparasitados.

Como técnicas parasitológicas recorreu-se ao método de McMaster, mas também a métodos coprológicos qualitativos e à coprocultura, que permitiram identificar quais os parasitas presentes na população.

Identificaram-se ovos de parasitas da família Strongylidae e *Parascaris* spp. A média e a mediana do número de ovos de EGI identificados foi superior para o grupo C e o grupo A apresentou um maior valor médio que o grupo B. Quanto a *Parascaris* spp. a média e mediana foram iguais nos dois grupos em que este parasita foi identificado. Nas coproculturas verificou-se que *Cyathostomum*, s.l. era o parasita mais abundante, sendo o *Cyathostomum* spp. tipo A aquele que apresentou maior abundância. Foram também identificados *Cyathostomum* spp. tipo C e tipo D, *Strongylus vulgaris*, *Gyalocephalus capitatus* e *Poteriostomum* spp..

O método de desparasitação seletiva permitiu manter a eficácia da desparasitação e os níveis de OPG baixos. Para além disso, ao diminuir o número de desparasitações necessárias reduziu os custos decorrentes da desparasitação e aumentou a população de parasitas em refúgio, evitando assim o desenvolvimento de resistências.

Palavras-chave: equinos; desparasitação seletiva; desparasitação estratégica; TRCOF; *Cyathostomum* s.l.; *Strongylus vulgaris*; análise de custo/benefício; refúgio.

ABSTRACT

Afonso, A. (2015). Intestinal parasites and their control in a population of horses stabled at Escola das Armas in Mafra, Portugal

The recommendations on parasite control have referred to the importance of changing the traditional strategic approach for a deworming methodology based on surveillance. This study main objective was to compare the two methods of deworming, in respect to EPG, the efficacy of ivermectin, through the Fecal Egg Count Reduction Test (FECRT), and costs resulting from each method. Thus, in a population of stabled horses, existing in Escola das Armas in Mafra, was designed a parasitological study with three groups: a group in which it was carried out selective therapy treatment, setting as *cut-off* for the deworming 200 eggs per gram of feces (EPG); a group under strategic therapy; and another group, the control one, whose animals were not dewormed.

As coprological techniques, the McMaster method has been used, but also qualitative fecal methods and faecal cultures, which allowed to identify the major parasites present in the population.

Parasite eggs from Strongylidae family and *Parascaris spp.* have been identified. The mean and median number of identified EGI eggs was higher in group C and group A showed a higher mean value than the group B. For *Parascaris spp.* eggs the mean and median was similar in both groups where it has been identified. In feces cultures was observed that *Cyathostomum s.l.* was the most abundant parasite, being the *Cyathostomum* type A the one with the highest abundance. *Cyathostomum* type C and type D, *Strongylus vulgaris*, *Gyalocephalus capitatus* and *Poteriostomum spp.* were also identified.

The selective method allows maintaining deworming effective and EPG to low levels. Furthermore, by reducing the number of required deworming, reduces the costs and increases the refugia, thereby avoiding the development of resistance.

Keywords: horses; targeted selective therapy; strategic therapy; FECRT; *Cyathostomum s.l.*; *Strongylus vulgaris*; cost/benefit analysis; refugia.

Índice

Agradecimentos	iii
RESUMO	v
ABSTRACT	vi
1. ACTIVIDADES DESENVOLVIDAS DURANTE O ESTÁGIO.....	1
2. ENQUADRAMENTO PRÁTICO.....	2
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	2
3.1. Os equinos em Portugal.....	2
3.2. Parasitoses nos equinos.....	4
3.3. Taxonomia.....	5
3.4. Super-família Strongyloidea.....	5
3.4.1. Família Strongylidae.....	5
3.4.1.1. Subfamília Strongylinae.....	5
3.4.1.1.1. <i>Strongylus vulgaris</i>	6
3.4.1.1.2. <i>Strongylus edentatus</i>	6
3.4.1.1.3. <i>Strongylus equinus</i>	6
3.4.1.1.4. <i>Triodontophorus</i> spp.	6
3.4.1.2. Subfamília Cyathostominae.....	7
3.5. Ciclo de vida.....	7
3.5.1. Família Strongylidae.....	7
3.5.1.1. Subfamília Strongylinae.....	8
3.5.1.1.1. <i>Strongylus vulgaris</i>	8
3.5.1.1.2. <i>Strongylus edentatus</i>	9
3.5.1.1.3. <i>Strongylus equinus</i>	9
3.5.1.1.4. <i>Triodontophorus</i> spp.	10
3.5.1.2. Subfamília Cyathostominae.....	10
3.6. Epidemiologia.....	10
3.6.1. Super-família Strongyloidea.....	10
3.6.1.1. Família Strongylidae.....	11
3.6.1.1.1. Subfamília Strongylinae.....	11
3.6.1.1.1.1. <i>Strongylus vulgaris</i>	11
3.6.1.1.1.2. <i>Strongylus edentatus</i>	12
3.6.1.1.1.3. <i>Strongylus equinus</i>	12
3.6.1.1.1.4. <i>Triodontophorus</i> spp.....	12
3.6.1.1.2. Subfamília Cyathostominae.....	12
3.7. Patogenia.....	13
3.7.1. Família Strongylidae.....	13
3.7.1.1. Subfamília Strongylinae.....	13
3.7.1.1.1. <i>Strongylus vulgaris</i>	14
3.7.1.1.2. <i>Strongylus edentatus</i>	15
3.7.1.1.3. <i>Strongylus equinus</i>	15
3.7.1.1.4. <i>Triodontophorus</i> spp.....	15
3.7.1.2. Subfamília Cyathostominae.....	15
3.8. Sinais clínicos.....	16
3.8.1. Família Strongylidae.....	16
3.8.1.1. Subfamília Strongylinae.....	16
3.8.1.1.1. <i>Strongylus vulgaris</i>	16
3.8.1.1.2. <i>Strongylus edentatus</i>	17
3.8.1.1.3. <i>Strongylus equinus</i>	17
3.8.1.1.4. <i>Triodontophorus</i> spp.....	17
3.8.1.2. Subfamília Cyathostominae.....	17
3.9. Diagnóstico.....	18
3.10. Ordem Ascaridida.....	19
3.10.1. Família Ascaridae.....	20
3.10.1.1. Género <i>Parascaris</i>	20
3.10.1.1.1. <i>Parascaris univalens</i>	20

3.10.1.1.2. <i>Parascaris equorum</i>	20
3.10.1.1.2.1. Ciclo de vida.....	20
3.10.1.1.2.2. Epidemiologia.....	21
3.10.1.1.2.3. Patogenia	22
3.10.1.1.2.4. Sinais Clínicos.....	23
3.10.1.1.2.5. Diagnóstico.....	23
3.11. Controlo parasitológico.....	24
3.11.1. Tratamento e controlo parasitológico.....	24
3.11.2. Medidas de controlo integrado das parasitoses.....	24
3.11.2.1. Tratamento selectivo.....	24
3.11.2.2. Tratamento estratégico.....	25
3.11.2.3. Avaliação da eficácia dos fármacos antihelmínticos.....	25
3.11.2.4. Manutenção do refúgio.....	26
3.11.2.5. Maneio das pastagens.....	26
3.11.2.6. Redução da densidade animal.....	26
3.11.2.7. Pastoreio com outras espécies de animais.....	26
3.11.2.8. Higiene e limpeza.....	27
3.11.2.9. Utilização de fungos nematófagos.....	27
3.11.2.10. Administração de fármacos antihelmínticos.....	27
3.11.2.11. Rotação de fármacos antihelmínticos.....	28
3.11.3. Ivermectina.....	28
3.11.4. Moxidectina.....	30
4. PARTE EXPERIMENTAL.....	31
4.1. Objectivos.....	31
4.2. Material e métodos.....	31
4.2.1. Caracterização da população estudada, localização e maneio.....	31
4.2.2. Caracterização meteorológica do local do estudo.....	32
4.2.3. Formação dos grupos.....	34
4.2.4. Período de colheita de material, tipo e sua conservação.....	36
4.2.5. Análise coprológica.....	37
4.2.5.1. Métodos coprológicos quantitativos.....	37
4.2.5.1.1. Técnica de McMaster.....	37
4.2.5.2. Métodos coprológicos qualitativos.....	37
4.2.5.2.1. Método de Willis	37
4.2.5.2.2. Método de Sedimentação	38
4.2.5.3. Coprocultura.....	39
4.2.6. Abundância dos diferentes géneros e espécies de parasitas encontrados.....	42
4.2.7. Desparasitante.....	42
4.2.8. Desparasitação.....	42
4.2.9. Determinação do número de Ovos por Grama de Fezes.....	43
4.2.10. Classificação do nível de infeção parasitária.....	43
4.2.11. Avaliação da eficácia do tratamento antihelmíntico.....	43
4.2.11.1. Determinação do Período de Reaparecimento de Ovos.....	44
4.2.12. Determinação da média e da mediana do número de animais positivos nos métodos coprológicos qualitativos.....	44
4.2.13. Análise de custo/benefício.....	44
4.2.14. Registo e Análise de dados.....	45
4.3. RESULTADOS	46
4.3.1. Ovos por Grama de Fezes.....	46
4.3.1.1. Classificação do nível de infeção parasitária.....	48
4.3.1.2. OPG e o clima.....	49
4.3.2. Métodos coprológicos qualitativos.....	50
4.3.3. Avaliação da eficácia do tratamento antihelmíntico.....	54
4.3.3.1. Período de reaparecimento de ovos.....	55
4.3.3.1.1. PRO e OPG.....	56
4.3.4. Coprocultura.....	56
4.3.4.1. Géneros e espécies de parasitas encontrados.....	56

4.3.4.1.1. Abundância dos diferentes géneros e espécies de parasitas encontrados.....	58
4.3.4.1.1.1. Abundância proporcional	58
4.3.4.1.1.2. Abundância média	60
4.3.4.2. Larvas por Grama de Fezes	61
4.3.4.2.1. LPG e OPG	62
4.3.4.3. Rendimento larvar.....	65
4.3.5. Avaliação do custo/benefício.....	66
4.4. DISCUSSÃO.....	68
4.5. CONCLUSÃO.....	79
5. BIBLIOGRAFIA	80
6. ANEXO	90
6.1. Anexo 1.....	90

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Representação dos valores médios de OPG de cada grupo.....	47
Gráfico 2. Representação dos valores medianos de OPG de cada grupo.....	47
Gráfico 3. Representação do nível de infecção parasitária que os animais que constituíam a amostra apresentavam no início do estudo.....	48
Gráfico 4- Representação dos valores médios e medianos de ovos de EGI identificados através dos métodos quantitativos, para cada grupo.....	53
Gráfico 5- Representação dos valores médios e medianos de ovos de <i>Parascaris</i> spp. identificados através dos métodos quantitativos, para cada grupo.....	53
Gráfico 6. Representação da média aritmética do período de reaparecimento de ovos (PRO) para o grupo A (desparasitação seletiva) e para o grupo B (desparasitação estratégica).....	55
Gráfico 7. Representação da mediana do período de reaparecimento de ovos (PRO) para o grupo A (desparasitação seletiva) e para o grupo B (desparasitação estratégica).....	56
Gráfico 8. Abundância das espécies de estrongilídeos identificadas no grupo A (desparasitação seletiva).....	58
Gráfico 9. Abundância das espécies de parasitas identificadas no grupo B (desparasitação estratégica).....	59
Gráfico 10. Abundância das espécies de parasitas identificadas no grupo C (grupo de controlo).....	60
Gráfico 11. Representação da abundância média de cada género e espécie parasitário no decorrer do estudo para cada grupo.....	61
Gráfico 12. Representação dos valores de LPG (Larva por grama de fezes) no decorrer do estudo.....	62
Gráfico 13. Representação da relação do valor de OPG com o LPG nas amostras de grupo.....	63
Gráfico 14- Representação da relação do valor de OPG com o LPG nas amostras do grupo A (desparasitação seletiva).....	64
Gráfico 15- Representação da relação do valor de OPG com o LPG nas amostras do grupo B (desparasitação estratégica).....	64
Gráfico 16- Representação da relação do valor de OPG com o LPG nas amostras do grupo C (controlo).....	65
Gráfico 17. Representação dos valores de Rendimento larvar durante o estudo para cada grupo.....	66

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Gravura de cavalo em Vila Nova de Foz Côa, Canada do Inferno.....	2
Figura 2. Pintura rupestre presente na gruta do Escoural.....	3
Figura 3. Extremidade anterior dos parasitas <i>Strongylus vulgaris</i> , <i>S. equinus</i> e <i>S. edentatus</i> , (respetivamente).....	6
Figura 4. Representação esquemática do ciclo de vida dos parasitas da família Strongylidae.....	8
Figura 5. Trombo num ramo da artéria mesentérica, causado pelo parasita <i>S. vulgaris</i>	14
Figura 6. Lesão intestinal secundária à infecção por <i>Cyathostomum</i> spp.....	16
Figura 7. Edema abdominal, como consequência de hipoproteínemia causada pela ciatostominose.....	18
Figura 8. Infecção pesada por <i>Parascaris equorum</i> adultos.....	20
Figura 9. Representação esquemática do ciclo de vida do parasita <i>Parascaris equorum</i>	21
Figura 10. Volvo intestinal, do segmento jejunal, possível consequência da infecção por <i>Parascaris equorum</i>	23

Figura 11.	Representação da estrutura química da ivermectina.....	28
Figuras 12 e 13.	Fotografias das instalações em que decorreu o estudo	32
Figura 14.	Preparação da Técnica de Flutuação.....	38
Figura 15.	Finalização da técnica de Sedimentação	38
Figuras 16 e 17.	Procedimento da técnica de coprocultura	40
Figura 18 e 19.	Continuação do procedimento da técnica de coprocultura	40
Figura 20.	Ovo do tipo estrogilídeo, obtido pelo método de Willis	51
Figura 21 e 22.	Ovos de <i>Parascaris</i> spp., obtidos pelo método de Willis.....	51
Figura 23.	Ovo do tipo estrogilídeo, obtido através da técnica de sedimentação.....	54
Figuras 24 e 25.	Ovos de <i>Parascaris</i> spp., obtidos pela técnica de sedimentação.....	54
Figura 26.	Larvas do estágio 3 de <i>Cyathostomum</i> spp., do tipo C e A.....	57

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1.	Valores de temperatura média (°C) em Lisboa.....	33
Tabela 2.	Valores de humidade relativa (%) média em Lisboa.....	33
Tabela 3.	Valores de precipitação (mm) média em Lisboa.....	34
Tabela 4.	Valores de OPG apresentados pelos animais da amostra, à data da primeira colheita de amostras de fezes	35
Tabela 5.	Caracterização dos animais da amostra quanto à idade e ao sexo.....	35
Tabela 6.	Caracterização dos animais quanto à aptidão desportiva.....	36
Tabela 7.	Número de células intestinais e seu arranjo nos parasitas da família Strongylidae.....	41
Tabela 8.	Exibição da data de desparasitação para cada animal desparasitado e do respectivo grupo a que pertence.....	42
Tabela 9.	Resumo dos dados da média e mediana do valor de OPG de cada grupo, no decorrer do estudo.....	46
Tabela 10.	Representação do nível de infeção parasitária, por grupo, no início do estudo.....	49
Tabela 11.	Representação do nível de infeção parasitária, por grupo, no meio do estudo (30 janeiro)	49
Tabela 12.	Representação do nível de infeção parasitária, por grupo, no final do estudo.....	49
Tabela 13.	Resultados dos testes de correlação, teste de Spearman, do número de ovos por grama de fezes com os dados meteorológicos.....	50
Tabela 14.	Resultados obtidos através do método de Willis para os grupos A (desparasitação seletiva) e B (desparasitação estratégica) durante o estudo.....	52
Tabela 15.	Larvas de parasitas identificadas nas coproculturas do grupo A (desparasitação seletiva) desde que se praticou a desparasitação até à data de reaparecimento de ovos nas fezes, exclusivé.....	57
Tabela 16.	Média dos valores de LPG durante o estudo, para cada grupo da amostra.....	62
Tabela 17.	Custos decorrentes da desparasitação para o grupo A (desparasitação seletiva) e para o grupo B (desparasitação estratégica)	67
Tabela 18.	Custos decorrentes da aplicação de desparasitação seletiva ou estratégica a todos os animais da amostra, utilizando como cut-off para a desparasitação o valor de 200 OPG	62

LISTA DE ABREVIATURAS

>, <, = - maior, menor, igual

%- percentagem

Kg- Quilo

mm- milímetro

µm - micrómetro

°C - graus Celsius

ADN- Ácido desoxirribonucleico

Cyathostomum, s.l.– *Cyathostomum, sensu latum*

EGI- estrogilos gastrointestinais

ELISA- *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*

IPMA- Instituto Português do Mar e da Atmosfera

INE- Instituto Nacional de Estatística

L1- larva do primeiro estágio

L2- larva do segundo estágio

L3- larva do terceiro estágio

L4- larva do quarto estágio

L5- larva do quinto estágio

LI3- larva inicial do terceiro estágio

LT3- larva tardia do terceiro estágio

LPDP – Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias

LPG- Larvas por Grama de Fezes

OPG- Ovos por Grama de Fezes

PCR-Polimerase Chain Reaction

PI- Pós-infecção

PPP- Período pré-patente

PRO- Período de Reaparecimento de Ovos

RL- Rendimento larvar

RLBH- Reverse Line Blot Hybridization

TRCOF– Teste de Redução da Contagem de Ovos Fecais

WAAVP- World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology

1. ACTIVIDADES DESENVOLVIDAS DURANTE O ESTÁGIO

O estágio decorreu no Hospital Veterinário Militar de Equinos, localizado na Escola das Armas, em Mafra, no período de 15 de setembro de 2014 a 15 de março de 2015.

O mesmo teve maior enfoque na medicina desportiva, nomeadamente no seguimento de casos de claudicação, mas também existiram as componentes cirúrgica, odontológica, entre outras.

A medicina desportiva constituiu, essencialmente, na realização de exames de claudicação, com a finalidade de localizar a área afectada e o motivo para, desse modo, poder instituir a terapêutica adequada. Assim, foram realizados exames estáticos e dinâmicos, bloqueios anestésicos, e recorreu-se, também, a meios de diagnóstico complementares, nomeadamente: a ecografia, a radiografia e a termografia. Os tratamentos foram realizados, através da administração de fármacos por via sistémica e intra-articularmente. Os equinos em causa, atravessaram um período de repouso e, posteriormente, regressaram progressivamente ao trabalho. As causas de claudicação foram diversas: abcesso no casco, desmiste do ligamento suspensor do boleto, síndrome podotroclear, exostoses, osteofitoses, osteoartrites e tendinite do tendão flexor digital superficial.

Foram acompanhados diversos casos de síndrome de abdómen agudo, que consistiram maioritariamente em impactação da flexura pélvica. Nesses casos, foi possível enquanto estagiária monitorizar os sinais vitais, efectuar palpação rectal, proceder a entubação nasogástrica, administrar fármacos e recuperar os equinos em causa.

Relativamente à componente cirúrgica, acompanhou-se a realização do procedimento de tenectomia do tendão flexor digital superficial, cirurgias artroscópicas, incluindo um caso para remoção de osteófito presente na articulação metacarpo-falangica, e ainda uma cirurgia para encerramento da cavidade torácica e tecido cutâneo da região torácica, após uma dilaceração por trauma.

Na área odontológica, foram realizadas várias correções dentárias.

Uma vez que a Escola das Armas dispõe de serviço de siderotécnica próprio, foi possível seguir o trabalho dos ferradores na realização de ferração ortopédica, com colocação de palmilhas, utilização de ferraduras recuadas e com os ramos alargados “cebolas” e correcção de aprumos em geral.

Foram ainda realizados os seguintes actos médicos: administrações de fármacos pelas vias oral, endovenosa e intramuscular, de desparasitantes e de vacinas; sutura e limpeza de feridas; limpeza de abcessos; tratamento de micoses; recuperação de cavalos lesionados.

2. ENQUADRAMENTO PRÁTICO

No passado, o controlo parasitológico ocorria através da administração de antihelmínticos a intervalos regulares, no entanto, esta prática conduziu ao aparecimento de resistências. Mais recentemente, os parasitologistas sugeriram uma nova forma de tratamento antiparasitário, baseado na vigilância, em que se monitoriza os níveis de infecção parasitária através das contagens de ovos fecais e se desparasita os equinos de forma selectiva (Reinemeyer, 2009; Nielsen, 2012; 2015).

Sabe-se que as novas guidelines devem sempre ser testadas em cada local, verificando a sua adequação, eficácia e realizando as adaptações necessárias, assim surgiu este estudo, que compara os dois métodos de desparasitação acima descritos, baseado nas premissas dos trabalhos de Nielsen (2012; 2015).

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Os equinos em Portugal

Durante o paleolítico, era histórica extensa que decorreu até 10 000 a. C., ocorreram glaciações que levaram à movimentação de animais, entre os quais equinos, que se deslocaram para sul, vindo a instalar-se na península Ibérica (Cavalo Garrano). São dessa era, mais propriamente do paleolítico superior, os primeiros registos da presença de cavalos em Portugal, os quais se encontram na Gruta do Escoural (Figura 1) e na Canada do Inferno (Figura 2), situados próximos de Évora e de Vila Nova de Foz Côa, respetivamente. Estes equinos seriam os antepassados das raças de cavalos portuguesas existentes actualmente: a Garrana, a Sorraia e a Lusitana.

Figura 1- Gravura de cavalo em Vila Nova de Foz Côa, Canada do Inferno. (Fundação Côa Parque, 2015)

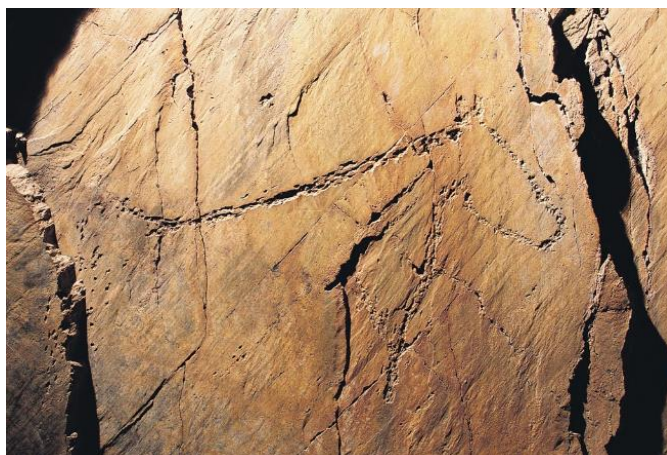


Figura 2- Pintura rupestre presente na gruta do Escoural. Representa um equídeo com a sua cria. (História da Arte Portuguesa- Pré História, 2015)



Como é do conhecimento geral, a sociedade dependeu largamente da utilização dos equinos para diversos fins, tais como: transporte, trabalhos (como os agrícolas), comunicação, caça, para travar guerras e até mesmo para desbravar novos continentes. Contudo, com a revolução industrial e o advento da maquinaria, os cavalos deixaram de ser tão utilizados (Monteiro, 1983). Mais tarde, a melhoria das condições económicas da população permitiu que o cavalo começasse a chegar a novas gentes como animal para actividades de lazer e de desporto. O cavalo Lusitano adquiriu maior visibilidade, nomeadamente as suas potencialidades desportivas, assumindo uma maior relevância cá dentro e lá fora, de tal forma que aumentaram as suas vendas, até para o estrangeiro (Monteiro, 1983). Deste modo, ocorreu um aumento da população equina, sendo que, segundo os dados do Instituto Nacional de Estatística, no ano de 2013, o efectivo equino nacional era constituído por 49 mil cabeças (Instituto Nacional de Estatística [INE], 2014). Estes animais destinam-se principalmente às diversas modalidades desportivas equestres e sela, mas também à reprodução, à produção para consumo humano e à utilização por forças armadas, entre outras (Monteiro, 1983).

A produção equina em Portugal realiza-se em 3 sistemas: pequenos proprietários, que possuem um número reduzido de animais destinados a lazer, mas dos quais também tiram partido através da sua reprodução; as grandes coudelarias, com grande número de animais, que têm como objectivo a obtenção de poldros para venda; e uma situação intermédia, com características comuns aos sistemas anteriores, que surgiu com a melhoria das condições económicas (Monteiro, 1983). Os equinos habitam tipicamente em estábulos ou pastagens no entanto, está cada vez mais implementado um sistema de “paddock” ou pequena pastagem com vedações (Madeira de Carvalho, 2001).

Nos últimos anos, o sector sofreu uma quebra devido à crise económica que assolou o nosso país, o que resultou numa maior dificuldade de algumas coudelarias em escoarem os

seus produtos, os poldros, envio de maior número de animais para o matadouro e desmazelo na saúde destes seres vivos.

Este último inconveniente poderá ter especial relevância ao nível das parasitoses, que continuam a existir e a necessitar de atenção, especialmente devido à implementação dos “paddocks” que aumentam a concentração de animais no espaço e, portanto, a probabilidade de ocorrer infecção parasitária (Madeira de Carvalho, 2001).

3.2. Parasitoses nos equinos

Os equinos albergam uma grande quantidade e variedade de parasitas (Pereira & Vianna, 2006), nomeadamente nematodes (Ascarídeos, Oxiurídeos, Estrongilídeos, Tricoststrongilídeos), céstodes (Anoplocefalídeos) e ectoparasitas (carraças, ácaros) (Balán et al., 2014), de entre os quais os nematodes gastrointestinais representam o maior grupo (Bowman, 2014) e o mais relevante em presença, frequência e patogenicidade (Madeira de Carvalho, Fazendeiro & Afonso-Roque, 2004)

Logo após o nascimento os equídeos em pastoreio são infectados por parasitas que estão presentes no ambiente. Essa infecção é mista, sendo constituída por vários helmintes gastrointestinais de diferentes géneros e espécies (Madeira de Carvalho, et al., 2004; Nielsen, 2012).

As possíveis consequências da infecção parasitária são várias: os parasitas podem provocar espoliação alimentar, com redução da digestão e da absorção de nutrientes (Cutolo, Santos & Allegretti, 2011; Bowman, 2014); alterações digestivas, como diarreia e perda de apetite; trauma, não só resultante das migrações parasitárias, mas também pela fixação dos parasitas às mucosas; reacção alérgica aos produtos do metabolismo dos parasitas; causam, também, irritação e hemorragias intestinais, podendo mesmo levar a rutura intestinal e morte (Pereira & Vianna, 2006; Ferraro, et al., 2008; Cutolo, et al., 2011; Studzinska, Tomczuk, Demkowska-Kutrzepa & Szczepaniak, 2012). Os parasitas podem ainda ser responsáveis pela ocorrência de anemia, caso sejam hematófagos ou secundariamente às lesões nas mucosas (Studzinska, et al., 2012). Poderá desenvolver-se doença, que se traduz, para além dos sinais clínicos já referidos, em quebra de crescimento, magreza, redução da performance e da fertilidade, fraqueza e distensão abdominal (Cutolo, et al., 2011). Contudo, alguns animais poderão apenas manifestar doença de forma insidiosa, nomeadamente nas infeções subclínicas.

Desde há muito tempo que se sabe que os parasitas são causadores de doenças e como tal o seu controlo é prática comum nas populações de equinos (Eysker, Bakker, Berg, Doorn & Ploeger, 2008; Kaplan & Nielsen, 2010). Desta forma, passar-se-á a abordar os parasitas que foram encontrados no decorrer deste estudo, fazendo uma revisão dos seus aspectos

mais importantes a nível da sua taxonomia, epidemiologia, ciclo de vida, patogenia e sinais clínicos resultantes da infecção.

3.3. Taxonomia

Os nematodes da Família Strongylidae são os parasitas gastrointestinais mais importantes que afectam os equinos, estando distribuídos mundialmente (Traversa, et al., 2007). Insererem-se na classe Nematoda, na ordem Strongylida, super-família Strongyloidea, família Strongylidae, a qual se divide taxonomicamente em duas subfamílias, a Strongylinae e a Cyathostominae (Bowman, 2014; Tesfu, Asrade, Abebe & Kasaye, 2014). Os da subfamília Strongylinae, também designados grandes estrongilos, compreendem: *Strongylus vulgaris*, *Strongylus edentatus*, *Strongylus equinus* e *Triodontophorus* spp., entre outros. Quanto à subfamília Cyathostominae, ou pequenos estrongilos, estão descritos aproximadamente 50 parasitas diferentes (Bowman, 2014).

À classe Nematoda pertence igualmente a ordem Ascaridida, super-família Ascaridoidea, família Ascarididae, género *Parascaris* (Kolk & Kroeze, 2013; Reinemeer & Nielsen, 2013) no qual se incluem as espécies *Parascaris equorum* e *Parascaris univalens* (Bowman, 2014).

3.4. Super-família Strongyloidea

De tamanho médio, estes parasitas apresentam cápsulas bucais consideráveis e os machos caracterizam-se por possuírem bolsa copuladora (Reinemeyer & Nielsen, 2013). Sabe-se que a subfamília Strongylinae provoca maior impacto clínico, apesar de actualmente serem menos prevalentes do que os parasitas da subfamília Cyathostominae (Andersen, et al., 2012).

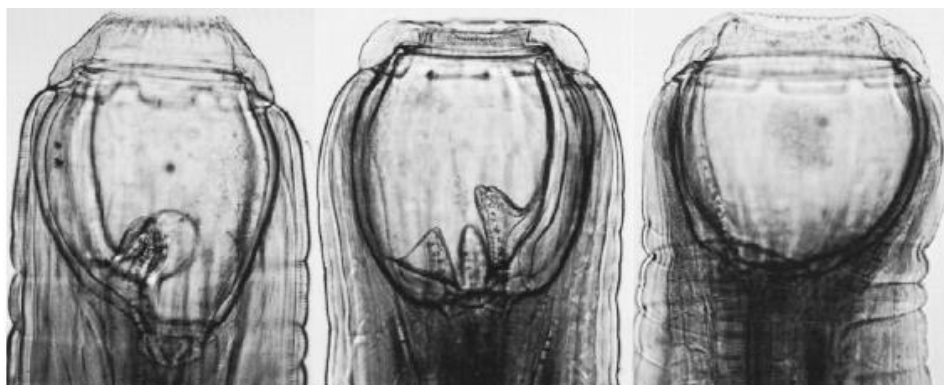
3.4.1. Família Strongylidae

3.4.1.1. Subfamília Strongylinae

Compreende as espécies *S. equinus*, *S. edentatus*, *S. vulgaris* (Figura 3) e *Triodontophorus* spp. (entre outros) os quais parasitam o cego e o colón (Bowman, 2014). São os parasitas mais patogénicos que afectam os equinos, mas não os mais prevalentes (Cernea, Cozma, Madeira de Carvalho, Cernea & Sas, 2004). Como hematófagos, apresentam uma coloração vermelha, pelo que também são conhecidos por vermes vermelhos (Kolk & Kroeze, 2013).

Estes parasitas possuem uma grande cápsula bucal, com ou sem dentes, adaptada à fixação na mucosa intestinal e uma coroa radiada foliácea (Quiroz, 2005; Reinemeyer & Nielsen, 2013).

Figura 3- Extremidade anterior dos parasitas *Strongylus vulgaris*, *S. equinus* e *S. edentatus* (respectivamente) (Bowman, 2014)



3.4.1.1.1. *Strongylus vulgaris*

É o parasita gastrointestinal mais patogénico que afecta os equinos (Nielsen, et al., 2015). Cosmopolita, encontra-se no intestino grosso destes seres vivos, em particular no cego e no cólon ventral (Guimarães, Costa & Costa, 1992). Os machos e fêmeas medem 14-16 mm e 20-24 mm, respectivamente, com 1.4 mm de largura (Kolk & Kroeze, 2013). A cápsula bucal contém no seu interior dois dentes arredondados (Quiroz, 2005).

3.4.1.1.2. *Strongylus edentatus*

É um grande estrongilo que raramente é patogénico (Bellaw & Nielsen, 2015) e habita o intestino grosso dos equinos (Kolk & Kroeze, 2013). Estes parasitas medem 2 mm de largura e 23–28 mm e 33–44 mm de comprimento, os machos e as fêmeas respectivamente. Apesar de ser semelhante a *S. equinus*, a sua cabeça é mais proeminente (Kolk & Kroeze, 2013). A cápsula bucal tem forma de copo e não possui dentes (Quiroz, 2005; Kolk & Kroeze, 2013).

3.4.1.1.3. *Strongylus equinus*

Parasita o cego e o cólon dos equinos. Os machos e as fêmeas medem 26 – 35 mm e 38 – 47 mm, respectivamente, e 2 mm de espessura (Kolk & Kroeze, 2013). A cápsula bucal tem forma oval alargada e contém três dentes na base (Quiroz, 2005).

3.4.1.1.4. *Triodontophorus* spp.

Compreende diversas espécies, sendo que aquelas que parasitam os equinos são: *Triodontophorus brevicauda*, *T. minor*, *T. popovi*, *T. serratus* e *T. tenuicollis* (Quiroz, 2005). Estes nemátodes medem entre 9 e 25 mm. Possuem uma cápsula bucal com formato de vesícula redonda, na qual se encontram três dentes, o que faz crer que estes parasitas sejam hematófagos (Ortlepp, 1925; Quiroz, 2005; Bowman, 2014). A espécie mais importante nos equinos é *Triodontophorus tenuicollis* (Anderson, 2000).

3.4.1.2. Subfamília Cyathostominae

Também designados pequenos estrongilos, são os nemátodes mais prevalentes em cavalos (Nascimento, et al., 2008; Couto, et al., 2009). A subfamília Cyathostominae é constituída por cerca de 50 espécies de parasitas (Lichtenfels, Kharchenko, Kuzmina & Krecek, 2005), que partilham similiaridade de ciclos de vida e modos de patogenicidade (Reinemeyer & Nielsen, 2013). Os parasitas adultos presentes no intestino medem 7 a 25 mm de comprimento (Foreyt, 2001).

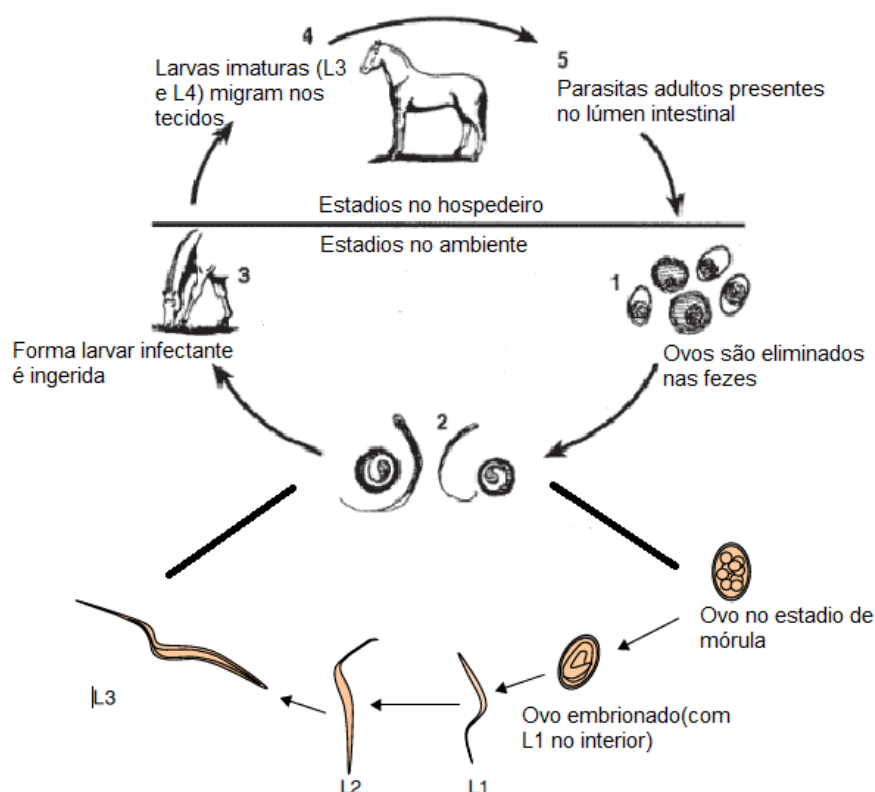
3.5. Ciclo de vida

3.5.1. Família Strongylidae

São parasitas ubíquos e de ciclo directo (Figura 4) (Reinemeyer & Nielsen, 2013; Tesfu, et al., 2014). Os adultos da família Strongylidae, que são habitantes do intestino grosso dos equídeos (Tesfu, et al., 2014), produzem ovos que são libertados para o exterior no estágio de desenvolvimento de mórula (Bowman, 2014). Estes ovos são do tipo estrongilídeo- ovais, com uma cápsula fina e embrionados, sendo assim designados pois são comuns às famílias Strongyloidea, Trichostrongyloidea (Kolk & Kroeze, 2013; Reinemeyer & Nielsen, 2013; Bowman, 2014), não se conseguindo portanto identificá-los com base na sua observação microscópica.

No ambiente, a mórula desenvolve-se numa larva do 1º estágio (L1) que eclode em 2-3 dias (Bowman, 2014). A L1, por sua vez, após se alimentar, desenvolve-se até ao segundo estágio larvar (L2), sendo que ambas se alimentam de bactérias presentes na massa fecal. A L2 sofre uma muda para o terceiro estágio larvar (L3), o qual mantém a baínha de L2 que funciona como protecção contra as condições ambientais mas impede a larva de se alimentar até ser ingerida pelo hospedeiro (Reinemeyer & Nielsen, 2013; Bowman, 2014). A L3 deixa a massa fecal migrando para o ambiente envolvente. Os equídeos infectam-se ao ingerir as L3, as quais, uma vez ingeridas, libertam-se da baínha (Reinemeyer & Nielsen, 2013; Bowman, 2014).

Figura 4 - Representação esquemática do ciclo de vida dos parasitas da família Strongylidae (Zoology 316- General Parasitology, 2012; Reinemeyer & Nielsen, 2013)



3.5.1.1. Subfamília Strongylinae

Depois de ingeridos estes parasitas, nomeadamente as L3, penetram a parede intestinal e migram através de diversos tecidos corporais como: o pâncreas (Kolk & Kroeze, 2013), o fígado, as artérias e o peritонеu (Reinemeyer, 2009). Nesses locais, ocorrem as mudas para o quarto estágio larvar (L4) e quinto estágio larvar (L5), regressando, posteriormente, ao trato intestinal onde se fixam à mucosa e se reproduzem, efectuando a ovopostura (Reinemeyer, 2009; Reinemeyer & Nielsen, 2013). O tempo mínimo de período pré-patente é 6 meses (Reinemeyer, 2009). O período pré-patente não é mais do que o tempo que decorre desde que o animal se infecta, ao ingerir a forma larvar L3, até se detectar a eliminação de ovos nas fezes (Reinemeyer & Nielsen, 2013).

3.5.1.1.1. *Strongylus vulgaris*

A infeção ocorre como resultado da ingestão de L3, as quais penetram inicialmente na mucosa do ceco e do cólon ventral e, posteriormente, na submucosa desses órgãos onde se dá a evolução para L4, 7 a 8 dias pós-infeção (PI). As L4 alcançam o sistema arterial, nomeadamente a íntima dos vasos, pelo qual vão migrando até atingir a artéria mesentérica cranial, o seu local de eleição, e também os seus principais ramos (Nielsen, Vidyashankar,

Olsen, Monrad & Thamsborg, 2012b; Andersen, 2013; Bowman, 2014). Neste local, podem ser encontradas a partir dos 11 a 21 dias PI e aí permanecem até aos 120 dias PI (Bowman, 2014; Nielsen, et al., 2015b). Alguns parasitas podem encontrar-se noutros vasos, como na aorta e nos seus ramos, no entanto, estas localizações erráticas podem não permitir completar o restante ciclo biológico (Reinemeyer & Nielsen, 2013; Bowman, 2014).

As L4 desenvolvem-se para L5 (Nielsen, et al., 2015b). Estas larvas preservam a cutícula do estágio anterior (até penetrarem novamente na parede intestinal) e são transportadas pela corrente sanguínea para as artérias da subserosa do intestino (Bowman, 2014). Invadem a parede intestinal do ceco e do cólon ventral, onde se formam nódulos (Reinemeyer & Nielsen, 2013).

Por fim, emergem dos nódulos, entram no lúmen intestinal, do ceco e do cólon ventral, atingem a maturidade, reproduzem-se e põem ovos que são eliminados para o exterior sendo o período pré-patente de 6 meses (Andersen, 2013; Reinemeyer & Nielsen, 2013).

3.5.1.1.2. *Strongylus edentatus*

A forma larvar infectante, L3, após ser ingerida penetra a parede do ceco e cólon ventral direito, atingindo as veias portais através das quais chega ao fígado 2 dias PI (Bowman, 2014; Bell, Reed & Messer, 2015). Em duas semanas as larvas evoluem para L4 as quais crescem em tamanho e permanecem no fígado cerca de 2 meses (Bowman, 2014; Bell, et al., 2015). Posteriormente, migram através dos ligamentos hepáticos para os tecidos retroperitoneais, onde se mantêm até aos 3 meses PI e sofrem a muda para L5 (Kolk & Kroeze, 2013; Bowman, 2014). Por último voltam ao ceco e ao cólon, penetrando no lúmen intestinal (Bell, et. al., 2015). O período pré-patente é de 11 meses, existindo a possibilidade de ser de apenas 6 meses. Sabe-se que podem ocorrer migrações erráticas, nomeadamente para a cavidade pleural e testículos (Kaufmann, 1996).

3.5.1.1.3. *Strongylus equinus*

A forma larvar infectante, L3, penetra a parede do ceco e cólon e aí evolui até L4 (Reinemeyer & Nielsen, 2013; Bowman, 2014). Onze dias PI, as larvas migram pela cavidade peritoneal alcançando o fígado, onde subsistem por um período de pelo menos 2 meses (Kolk & Kroeze., 2013; Bowman, 2014). Posteriormente, as L4 atingem o pâncreas e, novamente, a cavidade abdominal, onde vão evoluir até L5 nos 4 meses PI (Kolk & Kroeze, 2013; Reinemeyer & Nielsen, 2013; Bowman, 2014). Por fim, transpõem a parede intestinal, chegando ao lúmen. Neste local reproduzem-se e põe ovos, sendo o período pré-patente de 9 meses (Reinemeyer & Nielsen, 2013; Bowman, 2014).

3.5.1.1.4. *Triodontophorus* spp

Triodontophorus spp. apresenta um ciclo de vida semelhante ao dos pequenos estrongilos, sem migrações extra-intestinais. Após a ingestão, as L3, que são a forma larvar infectante, penetram a mucosa do cólon onde enquistam (Reinemeyer & Nielsen, 2013; Bowman, 2014). Posteriormente as L3 emergem para o lúmen e evoluem para L4, os quais se tornam adultos (Ortlepp, 1925; Anderson, 2000). Os adultos, que se fixam à mucosa do ceco e do cólon ventral, reproduzem-se e eliminam ovos para o exterior (Reinemeyer & Nielsen, 2013). O período pré-patente é de 2 a 3 meses (Reinemeyer & Nielsen, 2013).

3.5.1.2. Subfamília Cyathostominae

Os parasitas desta subfamília são cosmopolitas, oligoxenos (especificidade dentro da família Equidae) e monóxenos, ou seja o seu ciclo é directo (Lichtenfels, et al., 2005; Lake, Matthews, Kaplan & Hodgkinson, 2009). Os ovos são libertados nas fezes para o ambiente onde atingem a forma larval infectante (L3) (Abbott, Mellor & Love, 2007). As larvas, depois de ingeridas, enquistam na parede do intestino grosso (cego e cólon ventral) (Traversa, et al., 2007; Reinemeyer, 2009), nomeadamente na mucosa e, por vezes, na submucosa, onde pode haver uma paragem no desenvolvimento, designada hipobiose, permanecendo na parede do intestino grosso por um período de algumas semanas até 2 anos (Abbott, et al., 2007; Reinemeyer, 2009). Na parede intestinal dão-se as mudas até ao quarto estágio larvar (L4) (Abbott, et al., 2007). As L4 são libertadas no lúmen intestinal, onde evoluem até adultos, os quais se reproduzem e põem ovos (DiPietro, Klei & Reinemeyer, 1997; Abbott, et al., 2007; Traversa, et al., 2007; Lake, et al., 2009). Os parasitas adultos fixam-se ao intestino alimentando-se de matéria orgânica contida nos alimentos, nomeadamente de protozoários e elementos vegetais (Reinemeyer, 2009; Studzinska, et al., 2012).

3.6. Epidemiologia

3.6.1. Super-família Strongyloidea

Para que ocorra o desenvolvimento da mórula (presente no ovo) em L1 e, posteriormente, em L2 e L3 são necessárias condições adequadas de temperatura (25 – 33°C, constitui o intervalo de temperatura óptima), oxigénio e humidade, as quais normalmente são asseguradas pela própria massa fecal (Nielsen, et al., 2007; Reinemeyer, 2009; Reinemeyer & Nielsen, 2013; Sellon & Long, 2013; Bowman, 2014). As larvas L1, L2 e L3 são estádios de vida livre e a taxa do desenvolvimento referida é directamente proporcional à temperatura ambiente (Sellon & Long, 2013). Contudo, como já foi referido, as L3 ao permanecerem na

cutícula do estágio anterior estão impossibilitadas de se alimentarem (Reinemeyer & Nielsen, 2013), assim, dependem das suas reservas de energia para sobreviverem, as quais se esgotam rapidamente perante temperaturas altas, pelo que neste caso a temperatura tem um efeito oposto ao supramencionado. Deste modo, o desenvolvimento dos estádios de vida livre, assim como a infecção dos hospedeiros, são beneficiados nos meses que apresentem temperaturas amenas (Reinemeyer, 2009; Sellon & Long, 2013).

A infecção dos hospedeiros por estes parasitas ocorre principalmente enquanto pastam, ao ingerirem as L3 que se encontram no ambiente, as quais são a forma larvar infectante. Em cavalos estabulados, a infecção ocorre através da ingestão de forragem contaminada com L3, dado que o ambiente seco dos estábulos e o fato de as fezes dissecarem rapidamente não favorecem o desenvolvimento e sobrevivência dos estádios de vida livre (Reinemeyer, 2009). Em pastoreio, também é necessário que haja vegetação para propiciar as condições de humidade necessárias (Reinemeyer, 2009).

A estrongilidose (doença causada pela infecção por estrongilídeos) é característica e mais patogénica em animais jovens, uma vez que o parasitismo por estes parasitas resulta no desenvolvimento de imunidade do hospedeiro e portanto numa redução da infecção e da patogenicidade na idade adulta (Lyons, Tolliver & Kuzmina, 2012; Nielsen, Jacobsen, Olsen, Bousquet & Phil, 2015a).

Em poldros recém-nascidos, a presença de ovos de estrongilídeos nas fezes é apenas uma consequência da reciclagem destes parasitas secundária à sua ingestão devido aos comportamentos coprofágicos nos primeiros tempos de vida, sendo que a origem desses ovos de estrongilídeos são as fezes das éguas (Kuzmina, Lyons, Tolliver, Dzeverin & Kharchenko, 2012; Kolk & Kroeze, 2013; Reinemeyer & Nielsen, 2016).

3.6.1.1. Família Strongylidae

3.6.1.1.1. Subfamília Strongylinae

Actualmente, e como resultado de desparasitações frequentes, que foram implementadas tendo em vista a eliminação do parasita *S. vulgaris* devido à sua patogenicidade, os grandes estrongilos apresentam uma baixa prevalência (Reinemeyer, 2009; Teixeira, et al., 2014). As infecções causadas por estes parasitas podem ocorrer por um período de até 5 anos (Kolk & Kroeze, 2013). Sabe-se que os grandes estrongilos produzem centenas de ovos (Kuzmina, Lyons, Tolliver, Dzeverin & Kharchenko, 2012).

3.6.1.1.1.1. *Strongylus vulgaris*

Dada a patogenicidade deste parasita, no passado, foram implementados tratamentos anti-helmínticos mais intensivos, o que levou à redução da prevalência de *Strongylus vulgaris* de 80 para 5% (Bellaw & Nielsen, 2015; Nielsen, et al., 2015a). No entanto, considera-se que

as pastagens onde permaneçam equídeos por um período de um ano estão contaminadas por este parasita, apesar de os seus ovos não representarem mais de 10% da eliminação total de ovos de strongilídeos e os adultos presentes no hospedeiro normalmente não excederem os 200 (Bowman, 2014). A infeção por este parasita está associada à ocorrência de cólicas, representando 90% de todas as cólicas dos equinos (Nielsen, et al., 2015a).

3.6.1.1.1.2. *Strongylus edentatus*

Este parasita apresenta uma prevalência de 30% e resistência aos desparasitantes (Madeira de Carvalho, Fazendeiro & Afonso-Roque, 2007a), no entanto é menos patogénico do que os restantes parasitas do género *Strongylus* (Bowman, 2014).

2.6.1.1.1.3. *Strongylus equinus*

É um parasita difícil de remover (Bowman, 2014), mas é raro quando existem acções de controlo do mesmo, sendo a sua presença característica de locais em que esse controlo não é realizado ou decorre com menos intensidade (Nielsen, Baptiste, Tolliver, Collins & Lyons, 2010; Reinemeyer & Nielsen, 2013). Apresenta menor patogenicidade do que *S. vulgaris* (Bowman, 2014).

2.6.1.1.1.4. *Triodontophorus* spp.

Estes parasitas, apesar de causarem menos danos que os restantes parasitas da subfamília Strongylinae, são mais frequentes, sendo que Reinemeyer e Nielsen (2013) justificam esta situação pela possibilidade de não sofrerem a acção dos desparasitantes durante o seu período de enquistamento no intestino.

2.6.1.1.2. Subfamília Cyathostominae

Estes parasitas passam por uma fase do seu ciclo de vida em que entram em hipobiose, um período de inactividade. Segundo Stratford, McGorum, Pickles e Mathews (2011) “as condições frias a que as L3 são submetidas antes da ingestão, o aumento gradual da infeção por L3, a imunidade do hospedeiro e a densidade parasitária na parede e no lúmen intestinais são fatores que contribuem para o desenvolvimento do estado de hipobiose”, que ocorre durante o outono e inverno. Durante estas estações do ano, as larvas enquistadas e presentes na mucosa intestinal são a maior fonte de parasitas.

As larvas da família Cyathostominae constituem 80% a 100% das larvas de terceiro estágio, obtidas por coprocultura (Nascimento, et al., 2008). São, assim, em termos epidemiológicos e clínicos, dos mais importantes parasitas que afectam os equinos (Reinemeyer & Nielsen, 2013; Teixeira, et al., 2014).

Paralelamente à implementação de tratamentos parasitológicos mais intensivos, com o intuito de controlar *S. vulgaris* e que resultaram numa queda da sua prevalência, ocorreu o aumento da prevalência dos *Cyathostomum* spp., o aparecimento de resistências destes parasitas aos desparasitantes e um despertar da população científica quanto à relevância da ciatostomiose larvar (Martins, Pereira, Grisi & Scott, 2005). Assim, *Cyathostomum* spp. e a infeção por eles provocada têm adquirido maior valor e destaque nos últimos anos.

Sabe-se, também, que a existência de diferentes espécies de *Cyathostomum* spp., o aumento da resistência aos antihelmínticos e sua ineficácia nas formas larvares (L3), em hipobiose na parede do intestino grosso (uma vez que estas apresentam baixa susceptibilidade aos desparasitantes), fazem com que o controlo destes parasitas seja difícil (Chapman, French, Monahan & Klei, 1996; Abbott, et al., 2007; Pereira & Vianna, 2008; Lake, et al., 2009).

3.7. Patogenia

3.7.1. Família Strongylidae

O parasitismo por pequenos e/ou grandes estrongilos provoca uma doença designada estrongilidose, que é uma das parasitoses mais comuns em equinos (Nascimento, et al., 2008). Os estádios larvares são os mais patogénicos resultando nas síndromes de cólica tromboembólica e ciatostomiose larvar, provocadas por *Strongylus* spp. e *Cyathostomum* spp., respectivamente (Reinemeyer, 2009; Reinemeyer, et al., 2014). A infeção origina perdas económicas directas, devido aos gastos com o tratamento das suas consequências clínicas, e indirectas, uma vez que causa: quebra na produção e no desenvolvimento; redução da performance e da fertilidade, mesmo em infecções leves; e possível morte dos animais afectados (Martins, et al., 2005; Ferraro, et al., 2008; Braga, et al., 2009; Cutolo, et al., 2011; Teixeira, et al., 2014).

No entanto, Reinemeyer, et al. (2014), referem que, devido à ubiquidade destes parasitas, a ocorrência de um quadro clínico é rara, tendo assim maior impacto a infeção subclínica.

3.7.1.1. Subfamília Strongylinae

As larvas, durante as suas migrações, provocam lesões nos tecidos corporais, como no fígado, no peritoneu, assim como nas artérias e no intestino, onde também causam irritação (devido à sua fixação nos mesmos para se alimentarem) (Martins, et al., 2005; Nascimento, et al., 2008; Reinemeyer, 2009). Os parasitas adultos são igualmente responsáveis por lesões no intestino como consequência da fixação e do acto de se alimentarem (Kaufman,

1996; Martins, et al., 2005). As lesões ocorrem particularmente em poldros (Bowman, 2014). No acto da alimentação em si ocorre deplecção sanguínea e plasmática (Reinemeyer, 2009).

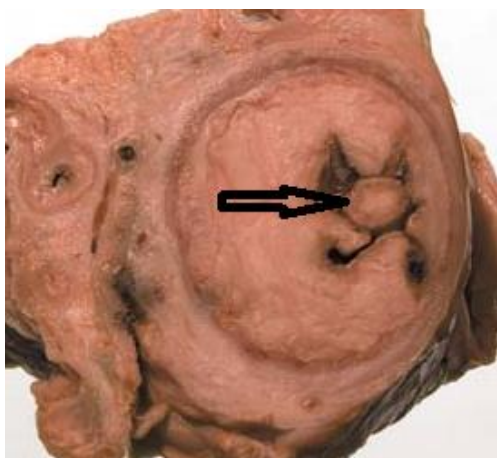
3.7.1.1.1. *Strongylus vulgaris*

A fase de migração das larvas é a mais importante do ponto de vista patogénico. Durante a sua permanência na artéria mesentérica cranial e nos seus ramos, as larvas causam endoartrite fibrinosa, formação de trombos ao seu redor (Figura 5), aumento do diâmetro dos vasos e espessamento da parede das artérias (Pilo, et al., 2012; Reinemeyer & Nielsen, 2013; Nielsen, et al., 2015a).

Este parasita, nomeadamente os estádios L4 e L5, caracteriza-se por aumentar a incidência de cólicas ao causar cólicas tromboembólicas, por um mecanismo patofisiológico ainda não completamente esclarecido (Sellon & Long, 2013; Bellaw & Nielsen, 2015). Uma das teorias é que, secundariamente à libertação de material trombótico, há oclusão de pequenos vasos intestinais, provocando um enfarte local e portanto isquémia que resulta em cólica dolorosa e potencialmente fatal (Bellaw, et al., 2012; Nielsen, et al., 2015b). No entanto, é referido que o acontecimento de enfarte intestinal é pouco frequente (Bowman, 2014). Reinemeyer e Nielsen (2013), Sellon e Long (2013) e Bowman (2014) sugerem também como causa a interferência no controlo neurológico local e alterações na motilidade intestinal.

Por sua vez, a permanência de L5 na parede do intestino provoca o aparecimento de pequenos abscessos (Reinemeyer & Nielsen, 2013). Os parasitas adultos têm um papel menos importante na patogenicidade, causando lesão na parede intestinal ao se fixarem e ingerirem proteínas do sangue e dos tecidos, podendo provocar uma anemia (Foreyt, 2001; Reinemeyer, 2009).

Figura 5- Trombo num ramo da artéria mesentérica, causado pelo parasita *S. vulgaris* (seta) (Kolk & Kroeze, 2013).



3.7.1.1.2. *Strongylus edentatus*

Este parasita provoca gastroenterite eosinofílica, fleimão conjuntival, formação de granuloma no cego e no cólon ventral direito (Bell, et al., 2015) e também causa hemorragia da subserosa (Kolk & Kroeze, 2013).

Secundariamente à infecção ocorre inflamação local que pode originar depósitos de fibrina e aderências nos órgãos abdominais (Studzinska, et al., 2012; Bell, et al., 2015). Nos tecidos retroperitoneais e na parede do intestino surgem nódulos (Kolk & Kroeze, 2013; Bell, et al., 2015). Também se dá a alteração da arquitectura do omento e linfadenopatia intestinal (Bell, et al., 2015).

A infecção provoca, igualmente, lesão hepática (Studzinska, et al., 2012) com desenvolvimento de hepatite (Kolk & Kroeze, 2013).

3.7.1.1.3. *Strongylus equinus*

A infecção por *S. equinus* causa pancreatite e pode danificar o fígado, resultando no desenvolvimento de disfunção pancreática e diabetes *mellitus*, respectivamente (Madeira de Carvalho, et al., 2007; Studzinska, et al., 2012; Reinemeyer & Nielsen, 2013). Provoca, igualmente, peritonite (Reinemeyer & Nielsen, 2013). A sua ocorrência na parede intestinal resulta no aparecimento de nódulos (Kolk & Kroeze, 2013; Bowman, 2014). Para além disso, é o grande estrongilo responsável pela maior perda de sangue (Kaufman, 1996).

3.7.1.1.4. *Triodontophorus* spp.

Apesar de *Triodontophorus* spp. ser menos patogénico do que os parasitas do género *Strongylus* (Bowman, 2014), *T. tenuicollis* provoca o aparecimento de úlceras na mucosa do cólon dorsal (Anderson, 2000).

3.7.1.2. Subfamília Cyathostominae

A infecção parasitária por estes parasitas pode originar quadros clínicos ou subclínicos que afecta cavalos de todas as idades (Martins, et al., 2005; Hodgkinson, 2008).

Enquanto enquistadas as formas larvares provocam uma reacção mínima (Reinemeyer, 2009), mas quando se dá a sua libertação massiva no lúmen intestinal, no final do inverno/princípio da primavera (Hodgkinson, 2008), ocorre uma síndrome designada de ciatostominose larval ou de tipo II, a qual tem uma taxa de mortalidade associada de 50% (Martins, et al., 2005; Traversa, et al., 2008; Fog, Vigre & Nielsen, 2011). Desenvolve-se, então, uma situação de inflamação ceco-cólica difusa (Figura 6) e diversas alterações clínicas (Martins, et al., 2005; Reinemeyer, 2009). A colite potencialmente fatal, com 50% de mortalidade associada, pode ser acompanhada de OPG (ovos por grama de fezes) igual a 0, qualquer que seja a sua gravidade (Martins, et al., 2005; Lake, et al., 2009).

A ciatostominose tipo I, é causada pela presença de adultos de *Cyathostomum* spp. no lúmen intestinal, o que não tem um grande impacto clínico, na medida em que não causa danos significativos na mucosa, no entanto, e como resultado da alteração da população de protozoários devido à sua ingestão, é responsável por cólicas, diminuição da performance, debilidade e mau estado do pêlo (Traversa, et al., 2007; Reinemeyer, 2009; Kaplan & Nielsen, 2010; Studzinska, et al., 2012).

Figura 6 – Lesão intestinal secundária à infecção por *Cyathostomum* spp.. É possível visualizar a mucosa edematosa e hiperémica com lesões ulcerativas onde se encontram os parasitas *Cyathostomum* spp. (Kolk & Kroeze 2013).



3.8. Sinais clínicos

3.8.1. Família Strongylidae

As consequências clínicas são tanto mais graves quanto maior o nível de infecção (Ferraro, et al., 2008). Clinicamente, a estrongilidose provoca, como já foi referido, redução da performance e do crescimento, perda de peso, cólica normalmente espasmódica e fraqueza (Gonçalves, Julliard & Leblond, 2002; Cernea, et al., 2004; Martins, et al., 2005; Reinemeyer, et al., 2014). Também ocorre anemia, distensão abdominal e o pêlo pode apresentar-se rugoso (Saeed, Qadir, Ashraf & Ahmad, 2010; Cutolo, et al., 2011; Teixeira, et al, 2014). Em infecções graves, caracteristicamente ocorre perda de peso e diarreia crónica (Cernea, et al., 2004).

3.8.1.1. Subfamília Strongylinae

3.8.1.1.1. *Strongylus vulgaris*

Como resultado das alterações a nível vascular no intestino, os animais parasitados por *S. vulgaris* desenvolvem a já referida síndrome tromboembólica, que tem um prognóstico reservado, podendo, em última instância, ser fatal (Nielsen, et al., 2012b; Sellon & Long,

2013). Os animais apresentam cólica com choque cardiovascular, taquicardia, sudorese, cianose das membranas mucosas e manifestações de dor (Nielsen, et al., 2015a).

3.8.1.1.2. *Strongylus edentatus*

Associada à infecção por *S. edentatus* está descrita a ocorrência de depressão, inaptência, febre, taquicardia, taquipneia (Bell, et al., 2015), ulcerações na cavidade oral e dermatite exsudativa nas bandas coronárias, com crostas (Kolk & Kroeze, 2013). A infecção também provoca hiperproteinemia e anemia (Bell, et al., 2015).

3.8.1.1.3. *Strongylus equinus*

Este parasita, quando presente em infecções pesadas, provoca anemia (Kaufman, 1996).

3.8.1.1.4. *Triodontophorus* spp.

A infecção por este parasita provoca perda de peso, letargia, anemia e por vezes diarreia (Urquhart, 1996).

3.8.1.2. Subfamília Cyathostominae

Como consequência da libertação de L4 no lúmen intestinal ocorrem, como já foi referido, inflamação ceco-cólica difusa e alterações clínicas (Martins, et al., 2005; Reinemeyer, 2009) como: sinais clínicos de anemia, anorexia parcial, diarreia aguda, perda de peso, enteropatia com perda de proteína e consequente hipobulinemia- que leva a edema abdominal ventral-, letargia, atraso no crescimento, cólica, pirexia, neutrofilia e até morte (Monahan, Chapman, Taylor, French & Klei, 1996; Martins, et al., 2005; Traversa, et al., 2007; Menzies-Gow, 2008; Nascimento, et al, 2008; Traversa, et al., 2008; Lake, et al., 2009; Kaplan & Nielsen, 2010; Collas, et al., 2014; Teixeira, et al, 2014). Também está descrito que a infecção por *Cyathostomum* spp. provoque invaginação do intestino grosso associada ao edema (Figura 7) e/ou inflamação.

Figura 7 – Fotografia em que é visível a existência de edema abdominal (localização habitual de edemas nos equinos), como consequência de hipoproteïnemia causada pela ciatostomiose (Kolk & Kroeze, 2013).



3.9. Diagnóstico

O diagnóstico das doenças parasitárias inicia-se pela avaliação macroscópica das fezes, verificando se contêm parasitas e também o seu aspecto, se são sanguinolentas ou diarreicas (Madeira de Carvalho, 2008a).

O diagnóstico, a nível microscópico, das parasitoses decorre mediante a utilização de técnicas quantitativas e qualitativas. Estas técnicas permitem quantificar e/ou identificar os parasitas presentes nas fezes dos animais. Assim, são recolhidas fezes dos animais, as quais são acondicionadas, com controlo de temperatura, e posteriormente analisadas.

Existem diversas técnicas quantitativas, como por exemplo, o método de McMaster. Esta técnica permite a contagem de ovos de parasitas, presentes numa determinada amostra de fezes, e utiliza uma câmara de McMaster, a qual permite contar o número de ovos, sendo esse valor multiplicado por 50 (limiar de deteção) de forma a obter o valor de ovos por grama de fezes (OPG) (Melo-Franco, Alho, Calero-Bernal & Madeira de Carvalho, 2015). O OPG, que permanece estável no tempo é indicador do nível de infeção parasitária e, consequentemente, do nível de contaminação ambiental (Madeira de Carvalho, 2008a; Nielsen, et al., 2010; Kuzmina, et al., 2012). No entanto, quando a contagem de ovos é 0 não significa que o animal não esteja parasitado, podendo tratar-se de um falso negativo, dado o limiar de deteção ou a fase do ciclo parasitário (formas imaturas e/ou migrações).

Para além disso, há que ter em conta que não é possível a extrapolação perfeita do valor de OPG para o número de adultos de nematodes gastrointestinais (Kuzmina, et al., 2012), nem a sua correlação com a gravidade da doença causada pelos parasitas (Sellon & Long, 2013).

Relativamente aos métodos qualitativos, compreendem os métodos de Willis e de Sedimentação. A técnica de Willis baseia-se no fato de os ovos leves serem menos densos

(densidades entre 1,10 e 1,20) que o líquido em que se encontram e, deste modo, flutuarem aderindo à lamela. É um método de flutuação que possibilita a pesquisa de ovos de nematodes e céstodes (Zajac & Conboy, 2006; Bowman, 2014).

No método de Sedimentação, como o próprio nome indica, os ovos sedimentam, dado que são mais densos que o líquido em que se encontram. Segundo Madeira de Carvalho (2008a) e Bowman (2014) esta técnica permite principalmente visualizar ovos de tremátodes (*Fasciola hepatica* e *Dicrocoelium dendriticum*) cuja densidade se encontra entre 1,30 e 1,35 (Zajac & Conboy, 2006), mas também de céstodes (Anoplocephalidae), ameba, ciliados, quistos de *Giardia* e oocistos de *Eimeria leuckarti*.

A coprocultura, outro método utilizado, tem como finalidade propiciar o desenvolvimento dos ovos parasitários até à forma larvar L3 (forma larvar infectante), sendo que para tal são necessárias: tempo, humidade, temperatura adequada e oxigenação (Couto, et al., 2008).

Estes métodos enumerados, para além de apresentarem baixa sensibilidade, não permitem o diagnóstico da infeção durante o seu período pré-patente, período este de elevada importância dados os efeitos patogénicos das formas larvares que ocorrem durante o mesmo (Nielsen, 2012).

Nos últimos anos, têm sido desenvolvidas novas técnicas de diagnóstico molecular. A partir da realização da técnica de PCR, que permite amplificar determinadas regiões da cadeia de ADN, nomeadamente de PCR semi-quantitativo (PCR), utilizando as fezes dos animais é possível verificar a ocorrência de *S. vulgaris* e *Cyathostomum* spp. através da deteção do ADN dos seus ovos (Andersen, et al., 2013). Estes métodos também não permitem detectar a infeção durante a fase mais patogénica (Nielsen, et al., 2015). Por outro lado, a execução do método de ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) possibilita o diagnóstico da doença durante o seu PPP ao permitir a deteção de antígenos específicos das larvas de *Cyathostomum* spp., enquistadas na parede intestinal, e, mais recentemente, a deteção de antígenos parasitários de *S. vulgaris* presentes no sangue (Nielsen, 2012; Nielsen, et al., 2015b).

Outro método que permite a identificação de ovos de estrongilos é o Reverse Line Blot Hybridization ou Hibridação, em que os produtos da amplificação por PCR são sujeitos a hibridação com diferentes sondas de oligonucleótidos (Traversa, et al., 2007; Ionita, et al., 2010; Sellon & Long, 2013).

3.10. Ordem Ascaridida

Esta ordem inclui géneros de parasitas que afectam animais distintos, nomeadamente *Ascaris suis*, *Toxocara* spp., *Toxascaris* spp. e *Parascaris equorum*, que parasitam respectivamente os suínos, os canídeos, os felinos e os equídeos. Estes parasitas do trato intestinal são os nematodes de maior dimensão (Bowman, 2014).

3.10.1. Família Ascarididae

3.10.1.1. Género *Parascaris*

3.10.1.1.1. *Parascaris univalens*

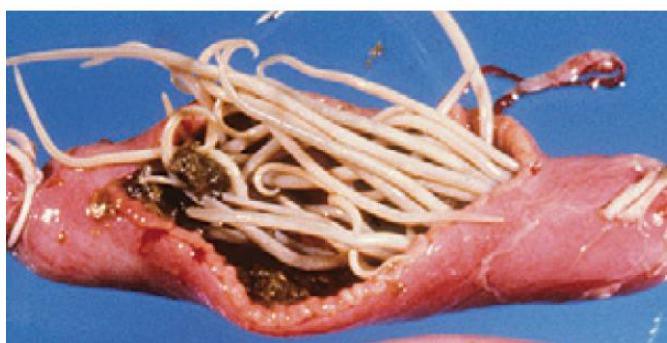
É morfologicamente indistinguível da outra espécie de ascarídeo que parasita os equídeos, *Parascaris equorum* (Janssen, Krücken, Demeler & Samson-Himmelstjerna, 2015). A diferença entre ambos reside no seu material genético, dado que o *P. univalens* possui um único par de cromossomas e *P. equorum* dois pares (Nielsen, et al., 2014a). A cariotipagem e a electroforese de proteínas são as únicas técnicas que permitem diferenciá-los (Nielsen, et al., 2014a; Janssen, et al., 2015).

Nielsen, et al., (2014) referem que *P. univalens* é a espécie mais prevalente e que, a não ser que haja confirmação de qual é a espécie, deve-se referir como *Parascaris* spp.

3.10.1.1.2. *Parascaris equorum*

É o ascarídeo de maiores dimensões e partilha com os outros géneros de parasitas dessa família a característica de possuir três lábios (Lindgren, et al., 2008; Bowman, 2014). Os parasitas machos medem 15– 28 cm e as fêmeas até 50 cm, tendo 8 mm de espessura (Kolk & Kroeze, 2013). Cosmopolita, caracteriza-se por infectar poldros de mama e também poldros com menos de um ano sendo o parasita mais importante nestas idades (Koudela & Bodecek, 2006; Lyons, Tolliver, Kuzmina & Collins, 2011). A infeção de cavalos adultos é rara (Laugier, Sevin, Ménard & Maillard, 2012).

Figura 8 – Infeção pesada por *Parascaris equorum* adultos (Bowman, 2014).



3.10.1.1.2.1. Ciclo de vida

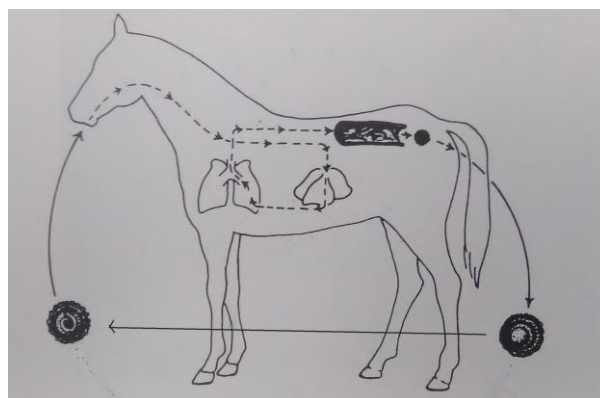
O ciclo de vida do parasita *P. equorum* é directo (Figura 9) e à semelhança dos outros membros da família Ascarididae apresenta especificidade de hospedeiro (Bowman, 2014).

Os equinos infectam-se ao ingerirem ovos infetantes que se encontram no ambiente, os quais contêm uma L3 no seu interior (Jabbar, et al., 2014). As larvas eclodem no intestino e perfuram a parede do intestino delgado, onde passam para as veias portais através das

quais atingem o fígado (Koudela & Bodecek, 2006; Bowman, 2014). Após migrarem pelos tecidos deste órgão, entram na veia hepática e depois na veia cava caudal seguindo até ao coração, onde atingem a artéria pulmonar, chegam aos pulmões e entram nos alvéolos (Bowman, 2014). Nos pulmões evoluem até L4, as quais ascendem na árvore traqueobrônquica através do muco, sendo tossidas e deglutidas, voltando assim o parasita ao intestino. No intestino, mais propriamente no duodeno e jejuno proximal, amadurecem para o estágio adulto (L5) e crescem (Koudela & Bodecek, 2006; Bowman, 2014). Os parasitas adultos reproduzem-se e as fêmeas eliminam ovos nas fezes 72 a 110 dias após a infecção, sendo este o PPP (Koudela & Bodecek, 2006). As fêmeas eliminam milhares de ovos por dia, os quais são libertados para o exterior não embrionados no estágio de desenvolvimento de mórula, que contém uma única célula (Quiroz, 2005; Bowman, 2014; Jabbar, et al., 2014).

Os ovos de *Parascaris* spp. são grandes, subesféricos, castanhos amarelados e apresentam uma casca grossa e rugosa. A parte exterior da referida casca não é mais do que uma camada de albumina aplicada pela fêmea de *Parascaris* spp. No decorrer da sua movimentação intestinal, o contacto com a matéria fecal pode originar uma coloração mais escura do ovo e a rutura da casca do mesmo, processo este que resulta numa coloração clara e na alteração da superfície do ovo, que se torna lisa. No ovo ocorrem duas mudas até atingir o 3º estágio de desenvolvimento larvar (Bowman, 2014).

Figura 9- Representação esquemática do ciclo de vida do parasita *Parascaris equorum* (Foreyt, 2001). É possível verificar a ingestão do ovo parasitário, cuja larva contida no seu interior se liberta no intestino, migrando posteriormente por tecidos extra-intestinais (fígado e pulmão) antes de voltar ao intestino, onde atinge o estágio adulto e se reproduz, eliminando ovos para o exterior.



3.10.1.1.2.2. Epidemiologia

Como já foi referido, *Parascaris equorum* é um parasita que afecta os poldros. Segundo Koudela & Bodecek (2006) os poldros até aos 6 meses de idade são mais susceptíveis à infecção e são a maior fonte da produção de ovos. Nessa idade, secundariamente ao contacto com o parasita, desenvolve-se uma imunidade protectora (Reinemeyer, 2009b;

Jabbar et al., 2014). Consequentemente, a infecção não é comum em cavalos adultos e quando ocorre é menos intensa (Reinemeyer, 2009b; Laugier, et al., 2012), sendo exceção os casos em que existe imunodepressão ou imunodeficiência na idade adulta (Jabbar, et al., 2014). Para além disso, Lindgren, et al. (2008) referem que, os cavalos mais velhos não eliminam ovos de *Parascaris equorum*.

Os animais infectam-se ao ingerirem os ovos que se encontram no ambiente, que foram eliminados pelos poldros dos anos anteriores (Lindgren, et al., 2008; Laugier, et al., 2012). Isto é possível devido à óptima capacidade de sobrevivência dos ovos e das larvas. Os ovos possuem uma casca grossa a qual lhes imputa uma resistência que lhes permite suportar condições ambientais adversas, nomeadamente temperaturas altas e outras agressões físicas e químicas, como condições de anaerobiose (Koudela & Bodecek, 2006; Bowman, 2014). Assim, os ovos permanecem viáveis no solo por muitos anos (Koudela & Bodecek, 2006; Lyons, et al., 2011; Bowman, 2014), sendo a contaminação cumulativa. Quanto às larvas, sabe-se que só eclodem após serem ingeridas pelo hospedeiro (Lyons, et al., 2011). O período de maior risco de transmissão, que ocorre entre a primavera e o outono nas regiões temperadas, corresponde à época em que os ovos deste parasita se tornam infetantes e coincide com a existência de poldros em pastagem/*paddocks*, existindo maior probabilidade de ocorrerem alterações gastrointestinais, nomeadamente cólicas, no outono (Lindgren et al., 2008; Kolk & Kroeze, 2013). Os cavalos infectados com *P. equorum* podem ter valores de OPG diários na ordem dos milhares (Lindgren, et al., 2008)

Sabe-se que, apesar de a infecção dos poldros não ocorrer via galactogénea podem contraí-la ao se alimentarem, uma vez que os ovos, que se encontram no ambiente, com a sua casca pegajosa aderem aos tetos e ao úbere das éguas (Lindgren, et al., 2008; Bowman, 2014).

Nos equinos a prevalência de *Parascaris* spp. é alta, variando de aproximadamente 20 a 80% (Laugier, et al., 2012).

3.10.1.1.2.3. Patogenia

A infecção por *Parascaris equorum*, causa doença clínica denominada Parascarirose. Em infecções massivas, os *Parascaris* spp. adultos podem causar invaginação, impactação, volvo (Figura 10), obstrução e até rutura intestinal, a qual poderá resultar em peritonite potencialmente fatal (Laugier, et al., 2012; Bowman, 2014). Kaufmann (1996) refere também a ocorrência de obstrução do ducto bilar.

Relativamente às migrações larvares, estas originam alterações hepáticas e pulmonares, que resultam em diminuição da capacidade funcional destes órgãos, de forma crónica, o que tem como consequência a redução da capacidade de crescimento destes animais, e propiciam o aparecimento de infecções bacterianas secundárias (Foreyt, 2001; Kolk & Kroeze, 2013; Bowman, 2014).

Figura 10- Volvo intestinal, do segmento jejunal, possível consequência da infecção por *Parascaris equorum* (Kolk & Kroeze, 2013).



3.10.1.1.2.4. Sinais clínicos

A infecção maciça por *Parascaris equorum* causa doença gastrointestinal, cólica associada a enterite moderada - com diarreia-, obstrução, impactação, invaginação, peritonite e ainda anorexia, fraqueza, diminuição do ganho de peso e do crescimento (Koudela & Bodecek, 2006; Lindgren, et al., 2008; Laugier, et al, 2012; Kolk & Kroeze, 2013; Bowman, 2014; Jabbar, et al., 2014). Os equinos apresentam também hipoproteinemia e abdômem saliente (Kolk & Kroeze, 2013).

As migrações larvares de *Parascaris* spp. provocam doença respiratória e hepática, com os seguintes sinais clínicos: descarga nasal, tosse, febre, anorexia, pneumonia, hepatite (Kaufmann, 1996; Craig, Diamond, Ferwerda & Thompson, 2007; Laugier, et al., 2012; Kolk & Kroeze, 2013; Jabbar, et al., 2014). Os animais parasitados têm o pêlo áspero e uma saúde mais frágil (Craig, et al., 2007; Laugier, et al., 2012). Esta infecção parasitária pode também causar infecções secundárias e morte (Lyons, et al., 2011; Janssen, Krücken, Demeler & Samson-Himmelstjerna, 2015). Os equinos podem igualmente apresentar doença parasitária subclínica.

3.10.1.1.2.5. Diagnóstico

Realiza-se também através dos exames coprológicos, já referidos, que permitem a quantificação e identificação de ovos nas fezes - métodos de McMaster, Willis e Sedimentação-, em conjunto com a ocorrência de sinais clínicos. Para além disso, a recolha de refluxo nasogástrico pode, por vezes, permitir o isolamento de *P. equorum* adultos (Kolk & Kroeze, 2013).

3.11. Controlo parasitológico

3.11.1. Tratamento e Controlo parasitológico

As abordagens de controlo parasitológico têm sido muito distintas no decorrer dos anos, baseando-se basicamente na administração de fármacos anti-helmínticos. Na década de 60, seguindo orientações de Harold Drudge e Eugene Lyons, e com o intuito principal de controlar o parasita *S. vulgaris*, implementou-se um programa de controlo parasitológico baseado em administrações de desparasitante a cada 2 meses, com rotação dos fármacos utilizados. O programa foi bem-sucedido no seu objectivo, uma vez que *S. vulgaris* tornou-se praticamente inexistente. Como consequência do programa referido, nomeadamente das administrações frequentes de desparasitantes, surgiram as resistências de *Cyathostomum* spp. aos mesmos, sendo que, hoje em dia, apenas as lactonas macrocíclicas são eficazes no seu controlo. Deste modo, estes parasitas tornaram-se na maior preocupação dos parasitologistas de equinos (Reinemeyer, 2009; Nielsen, 2012).

Assim, mais recentemente, tornou-se clara a necessidade de uma nova abordagem integrada das parasitoses, que envolva não só uma administração de fármacos, seletiva e sustentada na vigilância, que tenha como objectivo reduzir a população parasitária para valores basais que não tenham repercussões na saúde dos animais, mas também outras medidas de manejo que reduzam a transmissão dos parasitas (Nielsen, 2012; Nielsen, 2015).

3.11.2. Medidas de controlo integrado das parasitoses

3.11.2.1. Tratamento seletivo

Nos últimos anos, defende-se que a desparasitação dos animais deve ser seletiva, assentando na vigilância dado que, o uso indiscriminado e/ou inadequado de desparasitantes, pode ditar a diminuição da eficácia dos mesmos e o desenvolvimento de resistências parasitárias (Coles, et al., 1992; Balán, et al., 2014; Schneider, Pfister, Becher & Scheuerle, 2014; Nielsen, 2015); e que o tratamento de um grande número de animais acarreta grandes custos (Crane, Khallaayoune, Scantlebury & Christley, 2011).

O princípio em que se baseia esta abordagem consiste no fato de, numa população de equinos, apenas uma pequena proporção dos animais albergarem a maior parte dos parasitas, sendo, deste modo, os maiores contribuintes para a contaminação ambiental e, logo, a maior fonte de infeção. Tal situação decorre da diferente susceptibilidade individual dos equinos aos parasitas. Por outro lado, os restantes animais têm uma carga parasitária baixa, que se mantém praticamente inalterada ao longo do tempo, mesmo que não sejam sujeitos a desparasitação. Assim, só faz sentido, desparasitar os animais com o maior nível

de infecção parasitária, deixando os restantes por desparasitar (Reinemeyer, 2009; Nielsen, 2012). Portanto, os tratamentos parasitários só se realizam a partir de determinado valor de OPG, designado de *cut-off* (Schneider, et al., 2014), sendo que os animais que apresentem um valor de OPG abaixo do determinado como *cut-off*, não são desparasitados (Bracken, Wøhlk, Petersen & Nielsen, 2012). O valor de *cut-off* deve situar-se entre 0-500 OPG (Nielsen, 2012). A determinação do OPG, através do método de McMaster (entre outros métodos qualitativos) (Nielsen, 2012), permite concluir se os animais estão parasitados e classificar o nível de infecção parasitária, verificando assim a necessidade de tratamento antiparasitário (Nielsen, et al., 2010; Kuzmina, et al., 2012; Matthews & Lester, 2015). Relativamente à classificação do grau de infecção parasitária: quando o OPG é inferior a 500, o nível de infecção é leve; de 500-1000 OPG considera-se o nível de infecção médio; se o valor de OPG for superior a 1000 o nível é forte (Madeira de Carvalho, 2001).

3.11.2.2. Tratamento estratégico

O tratamento antiparasitário deve ser realizado com base no conhecimento da epidemiologia e dos ciclos de vida parasitários, para que seja efectuado no momento mais apropriado, de maior susceptibilidade dos parasitas (Nielsen, 2012). Para além disso, é importante que a desparasitação ocorra em simultâneo em todos os cavalos determinados numa dada população e que todos os novos equinos adquiridos sejam sujeitos a desparasitação antes de serem introduzidos na população existente (Kaufmann, 1996).

3.11.2.3. Avaliação da eficácia dos fármacos antihelmínticos

Dado o aparecimento de resistências dos parasitas aos desparasitantes, torna-se fundamental verificar se os fármacos, utilizados num dado programa de controlo parasitológico, ainda são eficazes contra os parasitas que se destinam a controlar (Reinemeyer, 2009). O Teste de Redução de Contagem de Ovos Fecais (TRCOF) permite verificar este fato e detectar, portanto, se existem resistências. Este método gera uma percentagem da redução da contagem de ovos fecais, após tratamento parasitológico (Coles, et al., 2006).

Considera-se que, as lactonas macrocíclicas são eficazes quando o resultado do TRCOF é igual ou superior a 95%. Para a ivermectina em concreto, está estabelecido que se o resultado obtido for menor 90% está presente a resistência (Reinemeyer, 2009; Stratford, et al., 2011; Matthews & Lester, 2015)

A eficácia dos fármacos antiparasitários deve ser avaliada anualmente, em todos equídeos caso a população seja pequena, ou numa amostra representativa, no caso de grandes populações (Kaufmann, 1996; Reinemeyer, 2009).

3.11.2.4. Manutenção do refúgio

Refúgio é o termo utilizado para designar a proporção da população de parasitas que não é exposta aos fármacos (Kaplan, 2004). Compreende: as formas parasitárias de vida livre que se encontram no ambiente, os parasitas presentes em animais que não são desparasitados e os estádios parasitários que não sejam afectados pelos desparasitantes, como é o caso das larvas de *Cyathostomum* spp. em hipobiose, enquistadas no intestino (Kaplan, 2004; Nielsen, 2012). Como não sofrem a ação dos fármacos, não são sujeitos à seleção para a resistência aos mesmos (Kaplan, R. M., 2004; Nielsen, 2012). Deste modo, quanto maior a população incluída no refúgio, menor será a rapidez com que a resistência se pode vir a desenvolver (Lindgren, et al., 2008; Nielsen, 2012). A implementação de tratamentos seletivos permite manter os níveis do refúgio (Nielsen, 2012; Schneider, et al., 2014).

3.11.2.5. Maneio das pastagens

Nas pastagens onde os animais se encontram podem existir larvas de parasitas, constituindo um risco de infecção. Assim, são necessárias medidas de maneio que permitam reduzir a contaminação ambiental, de forma a evitar tal situação (Tarazona Vilas, 1992; Kaufmann, 1996; Nielsen, 2012).

As pastagens devem ser aradas e gradadas (Nielsen, 2010a; Nielsen, 2012), na época mais quente do ano de modo a que as L3 fiquem expostas ao calor (Reinemeyer, 2009; Bowman, 2014). Por outro lado, este ato compromete o comportamento de pastoreio seletivo dos equinos-, uma vez que não pastoreiam em zonas com fezes-, favorecendo deste modo, as infeções parasitárias com base em parasitas monoxenos (Tarazona Vilas, 1992). A pastagem deve ser deixada livre várias semanas (Reinemeyer, 2009).

Deve também ser efetuada a rotação das pastagens, de modo a quebrar os ciclos de vida parasitários (Reinemeyer, 2009b; Doorn, Eysker, Kooyman, Wagenaar & Ploeger, 2012)

3.11.2.6. Redução da densidade animal

A densidade animal na pastagem deve ser reduzida, de modo a evitar que os equinos pastoreiem em zonas contaminadas com fezes e portanto com parasitas (Doorn, et al., 2012), dado o comportamento de pastoreio seletivo, acima referido evitando as zonas onde se encontram fezes (Tarazona Vilas, 1992).

3.11.2.7. Pastoreio com outras espécies animais

Tarazona Vilas (1992), Nielsen (2012) e Matthews (2014) referem, ainda, como medida o pastoreio conjunto com outras espécies de animais, nomeadamente bovinos. Esta acção tem como base o fato de as larvas infectantes serem destruídas após a ingestão por uma espécie diferente, devido à especificidade de hospedeiros dos nematodes (Fernandes, Seno, Amarante, Souza & Belluzo, 2004). No entanto, há que ter em atenção que os

equinos e os ruminantes são infetados por *Trichostrongylus axei*, podendo assim ocorrer a transmissão deste parasita entre as duas espécies (Tarazona Vilas, 1992)

3.11.2.8. Higiene e limpeza

De modo a reduzir a contaminação do ambiente, outra medida importante consiste na tarefa simples de eliminar as fezes dos equinos, quer dos estábulos, quer das pastagens (Tarazona Vilas, 1992; Koudela & Bodecek, 2006; Nielsen, 2010a; Kolk & Kroeze, 2013). Esta tarefa tem especial relevância no controlo de *Parascaris* spp., tendo em consideração, a enorme capacidade de sobrevivência e a longevidade dos seus ovos (Koudela & Bodecek, 2006).

Existem outras acções de higiene especialmente relevantes no controlo do parasita referido, como remover todo o material da cama semanalmente, lavar a boxe com produtos de limpeza a vapor ou a alta pressão, principalmente as que vão receber poldros. Para além destas medidas, é ainda necessário efectuar a higienização do úbere e tetos da égua antes do parto de modo a impedir a transmissão da infeção aos poldros (Bowman, 2014).

3.11.2.9. Utilização de fungos nematófagos

São também utilizados, no controlo parasitológico, fungos nematófagos. Estes seres vivos evitam o desenvolvimento e a sobrevivência de larvas de estrongilos no ambiente, reduzindo a contaminação das pastagens pelas mesmas (Madeira de Carvalho, 2001; Nielsen, 2012). São deste modo especialmente importantes num cenário em que estejam presentes resistências antiparasitárias (Nielsen, 2012).

3.11.2.10. Administração de fármacos antihelmínticos

O controlo parasitológico decorre principalmente através do uso de desparasitantes (Stratford, et al., 2011), cuja aplicação permite reduzir a eliminação de ovos nas fezes e, portanto, a contaminação ambiental (Nielsen, et al., 2010) o qual é o objectivo principal. Deste modo, evita-se a infeção dos animais, melhora-se a saúde e a performance dos animais afectados (Reinemeyer, 2009).

Os antiparasitários usados contra os nemátodes são os benzimidazóis, nos quais se incluem o febendazol, albendazol e oxibendazol; as tetrahidropirimidinas, como o pamoato de pirantel; e as lactonas macrocíclicas (ivermectina e moxidectina) (Blanek, et al., 2006; Kuzmina & Kharchenko, 2008). Actualmente apenas as lactonas macrocíclicas são eficazes contra os Strongylidae que afectam os cavalos, uma vez que há resistência aos outros fármacos enumerados (Nielsen, Monrad & Olsen, 2006; Kuzmina & Kharchenko, 2008; Bowman, 2014).

É de esperar no futuro que, a família Strongylidae desenvolva resistência contra a ivermectina (Nielsen, et al., 2006) dado que, já foi descrita noutros animais (Peregrine, 2005;

Quanto a *Parascaris equorum*, recorre-se aos seguintes desparasitantes para o seu controlo: lactonas macrocíclicas, benzimidazóis, tetrahidropirimidina e piperazina (Lyons, et al., 2011; Jabbar, et al., 2014). No entanto, este parasita também já apresenta resistência contra as lactonas macrocíclicas (Craig, Diamond, Ferwerda & Thompson, 2007; Lyons, et al., 2008; Bowman, 2014) e tetrahidropirimidina, sendo necessário recorrer aos outros desparasitantes (Lyons, et al., 2011). É ainda importante referir que este parasita é dose-limitante, pelo que o seu controlo nem sempre é atingido, dada a possibilidade de não absorver uma dose suficiente de fármaco antihelmíntico (Reinemeyer, 2009b).

A utilização desta medida é hoje em dia sugerida como forma de evitar o desenvolvimento de resistências dos parasitas aos desparasitantes usados, no entanto não foram encontradas provas de que a rotação de fármacos resultasse na redução do aparecimento de resistência (Kaplan & Nielsen, 2010).

É uma avermectina, do grupo das lactonas macrocíclicas (Figura 11), sendo produzida por uma actinobactéria, *Streptomyces avermitilis* e considerada o antiparasitário mais eficaz e menos tóxico (Hennel, 2006; Bowman, 2014).

A ivermectina fixa-se ao receptor do glutamato dos canais de cloro-glutamato (Reinemeyer & Nielsen, 2013), os quais são mediados pelo neurotransmissor GABA - presentes nas membranas das células nervosas e musculares dos invertebrados-, bloqueando o canal (Hennel, 2006; Kolar & Eržen, 2006). Isto resulta na entrada de cloro nas células, causando disrupção dos impulsos nervosos, hiperexcitação nervosa e diminuição da transmissão nervosa (Kolar & Eržen, 2006). Ocorre, então, uma paralisia flácida que impede os parasitas de se alimentarem e permite que os estádios parasitários presentes no lúmen intestinal sejam eliminados nas fezes por peristaltismo, e os estádios larvares, localizados noutros locais, sejam mortos pelas respostas celulares imunes (Reinemeyer & Nielsen, 2013).

A ivermectina tem acção de largo espectro, actuando contra nemátodes e parasitas externos pelo que se designa um endectocida (Toguchi & Chinone, 2005; Reinemeyer & Nielsen, 2013; Bowman, 2014). Sabe-se que é eficaz contra os nemátodes presentes no lúmen intestinal e também contra os estádios migratórios, como os que *Strongylus* spp. e *Parascaris* spp. apresentam (Klei, et al., 2001; Laugier, et al., 2012; Reinemeyer & Nielsen, 2013). Reinemeyer e Nielsen (2013) dizem que este desparasitante tem acção nas 48h pós tratamento.

No entanto, vários estudos têm referido uma diminuição da sua capacidade em reduzir as contagens de ovos fecais e, também, do período de reaparecimento de ovos (período que decorre entre a desparasitação e o reaparecimento de ovos nas fezes (PRO)) -, no que se refere a *Cyathostomum* spp., das 8 semanas descritas para 4-5 semanas (Eysker, et al., 2008; Stratford, et al., 2011; Reinemeyer & Nielsen, 2013). A diminuição do PRO pode-se dever à falta de eficácia nas larvas presentes na mucosa intestinal, as quais após o tratamento evoluem rapidamente, resultando num ciclo de vida mais rápido (Kyvsgaard, et al. 2011; Stratford, et al., 2011).

Quanto ao controlo de *Cyathostomum* spp. em particular, o fármaco tem acção contra os adultos e as larvas do quarto estágio presentes no lúmen intestinal, mas não contra as LI3 e LT3 em hipobiose, enquistadas na parede do intestino (Klei, et al., 2001; Menzies-Gow, 2008; Stratford, et al., 2011), como já foi referido.

No tratamento contra a infecção por *Parascaris* spp., a ivermectina também apresenta reduzida eficácia contra os estádios larvares de *P. equorum*, existindo relatos de resistência em todo o mundo, com a ivermectina a não ser capaz de eliminar a infeção (Hearn & Peregrine, 2003; Näreaho, Vainio & Oksanen, 2011; Tydén, Engström, Morrison & Höglund, 2013; Bowman, 2014; Janssen, Krücken, Demeler & Samson-Himmelstjerna, 2015).

Pode ser administrada em todas as idades, incluindo durante a gravidez e em garanhões. Relativamente aos poldros, é desaconselhada a desparasitação antes das 6-8 semanas, uma vez que existe imaturidade da barreira hemato-encefálica que pode resultar em toxicidade da ivermectina (Bowman, 2014).

A dose recomendada é de 0.2mg/kg peso vivo por via oral ou injectável (Hennel, 2006; Kolar & Eržen, 2006), sendo que a utilização desta última via de aplicação não se aplica aos equinos. A utilização de pastas orais é a forma de administração mais frequente.

3.11.4. Moxidectina

É uma lactona macrocíclica, do grupo das milbemicinas, que possui o mecanismo de ação já enunciado para a ivermectina. Este fármaco é utilizado no controlo de grandes e pequenos strongilos (incluindo as formas larvares enquistadas de *Ciathostominae*), *Parascaris* spp., *Oxiuris equi*, *Habronema muscae* e *Gasterophilus* spp. (Bowman, 2014).

A sua administração pela via oral, faz-se na dose de 400mg/kg de peso vivo, utilizando um gel (Equest, 2016). Este fármaco é lipofílico, acumula-se no tecido adiposo sendo libertado de forma gradual (Reinemeyer & Nielsen, 2013). Devido a esta característica não pode ser administrado em poldros com menos de 4 meses, nem em equídeos adultos muito magros (Equest, 2016).

4. PARTE EXPERIMENTAL

4.1. Objectivos

Seguindo as recomendações da necessidade de uma abordagem de controlo parasitológico baseada na vigilância e tratamentos estratégicos, foi desenvolvido um estudo parasitológico para:

- Avaliar o parasitismo presente;
- Determinar a eficácia do programa de controlo de parasitas na população de equinos;
- Avaliar a influência do clima na infeção parasitária;
- Analisar a infeção parasitária de forma quantitativa e qualitativa, comparando os resultados obtidos entre os grupos com os descritos na literatura.

Com base na literatura recente sobre controlo parasitário em equinos, foi delineado um ensaio de campo para comparação de diferentes estratégias de desparasitação, com base na monitorização do nível de OPG nos diferentes grupos. Deste modo, fixou-se o limite da desparasitação seletiva em 200 OPG, comparando um grupo com tratamento selectivo baseado neste nível de OPG, com um grupo de desparasitação estratégica tradicional, em que todos os animais eram desparasitados, e com um grupo de controlo.

A análise de custo/benefício do método de desparasitação seletiva face ao método de desparasitação estratégica tradicional, constituiu igualmente outro objectivo deste estudo.

4.2. Material e Métodos

4.2.1. Caracterização da população estudada, localização e manejo

Este estudo foi realizado numa população de equinos estabulados numa unidade do Exército Português, Escola das Armas, localizada na vila de Mafra, distrito de Lisboa (Figuras 12 e 13). Nesse local era desconhecido qual o grau de parasitismo e quais os parasitas presentes. A desparasitação de todos os cavalos era efetuada uma vez ao ano, com base nos resultados de um estudo anterior (Gersão, 2010).

Os animais em causa eram mantidos em iguais condições de alojamento, em boxes. Relativamente à alimentação, a ração era distribuída três vezes por dia e a palha fornecida duas vezes ao dia, tendo livre acesso a água. As fezes eram removidas das boxes duas vezes por dia, de manhã e à tarde. Os equídeos poderiam ter acesso à pastagem nas suas incursões pelo exterior.

Figura 12 e 13 – Fotografias das instalações em que decorreu este estudo (Original)



4.2.2. Caracterização meteorológica do local do estudo

Segundo a classificação de Köppen, o clima na região onde se insere a vila de Mafra (onde se localiza a Escola das Armas) caracteriza-se por ser temperado, com inverno chuvoso e um verão seco e pouco quente (Instituto Português do Mar e da Atmosfera [IPMA]).

De acordo com Reis (2011) e para análise da influência do clima no desenvolvimento das formas endógenas de strongilídeos dos equídeos, foram registados vários parâmetros (temperatura, humidade e precipitação) à data da colheita das amostras de fezes e um mês antes; foram também registados estes parâmetros para onze meses antes da colheita de fezes, de modo a investigar a sua ação no desenvolvimento da fase exógena do ciclo de vida destes parasitas, sendo que se determinou que o intervalo seria de onze meses pois este é o tempo que corresponde à duração máxima do PPP apresentado pelos parasitas da família Strongylidae (Bowman, 2014). Os valores médios de temperatura (Tabela 1), humidade relativa (Tabela 2) e precipitação (Tabela 3) que vigoravam nas datas das colheitas das amostras de fezes, no mês anterior e onze meses antes (para a mesma década) estão representados nas tabelas 1, 2 e 3. Estes valores são relativos a Lisboa, o local mais próximo da vila de Mafra.

Tabela 1 (IPMA) - Valores de temperatura média (° C) em Lisboa

Data de colheita da amostra de fezes	Temperatura média na década da colheita (° C)	Temperatura média no mês anterior (°C)	Temperatura média 11 meses antes (°C)
21-nov-2014	14,2	21,95	11,4
05-dez-2014	12,75	16,8	14,15
19-dez-2014	11,2	15,7	11,5
02-jan-2015	7,95	12,75	11,95
16-jan-2015	10,95	11,2	12,2
30-jan-2015	11,65	9,8	11,8
13-fev-2015	11,85	10,95	15
27-fev-2015	13,05	11,65	12,2
13-mar-2015	13,4	11,85	16,8
27-mar-2015	14,85	13,05	15,55
10-abr-2015	18,15	14,85	20,2
24-abr-2015	18,05	14,85	16,75

Tabela 2 (IPMA) - Valores de humidade relativa (%) média em Lisboa

Data de colheita da amostra de fezes	Humidade relativa (HR) média na década da colheita (%)	Humidade relativa (HR) média no mês anterior (%)	Humidade relativa (HR) média 11 meses antes (%)
21-nov-2014	-	70.9	87.8
05-dez-2014	84.0	84.2	89.4
19-dez-2014	96.8	89.5	86.7
02-jan-2015	89.8	84.0	82.7
16-jan-2015	94.0	96.8	85.4
30-jan-2015	95.8	88.3	86.9
13-fev-2015	77.3	94.0	62.7
27-fev-2015	79.8	95.8	75.5
13-mar-2015	73.7	77.3	83.4
27-mar-2015	71.0	79.8	75.0
10-abr-2015	83.9	72.1	61.8
24-abr-2015	87.9	71.0	69.2

Tabela 3 (IPMA) - Valores de precipitação (mm) média em Lisboa

Data de colheita da amostra de fezes	Precipitação média na década da colheita (mm)	Precipitação média no mês anterior (mm)	Precipitação média 11 meses antes (mm)
21-nov-2014	95,2	0.0	61.1
05-dez-2014	0.3	32.8	79.5
19-dez-2014	39.9	194.7	97.9
02-jan-2015	0.1	0.3	116.5
16-jan-2015	77.7	39.9	54.8
30-jan-2015	14.9	8.8	20.3
13-fev-2015	8.5	77.7	0.0
27-fev-2015	2.5	14.9	39.5
13-mar-2015	22.3	8.5	8.8
27-mar-2015	0.4	2.5	9.6
10-abr-2015	26.0	0.1	0.0
24-abr-2015	19.2	0.4	27.7

4.2.3. Formação dos grupos

Na população de equinos, e tendo como ponto de partida uma recolha aleatória de fezes na população, foram formados 3 grupos, de 5 animais cada, com base nos valores de OPG (diferentes de zero), os quais foram alinhados de modo a criar, na medida do possível, grupos equilibrados entre si com base no nível de OPG, cujos valores para cada animal podem ser consultados na tabela 4. As médias de OPG de grupo foram, então: 1810 para o grupo A, 580 OPG para o grupo B e 560 OPG para o grupo C. No grupo A, foi efetuada desparasitação seletiva (quando o OPG > 200 era detetado nalgum animal, este era desparasitado) (Nielsen, Pfister & Samson-Himmelstjerna, 2014a), o grupo B correspondeu aos animais que foram desparasitados estrategicamente, como era hábito naquele local (uma desparasitação anual de todos os animais ao mesmo tempo) e o grupo C, de controlo, era constituído pelos animais que não sofreram tratamento antiparasitário durante o estudo (Kyvsgaard, et al. 2011; Nielsen, et al., 2012b). O sexo e a idade dos animais compreenderam, respectivamente, oito equinos do sexo masculino e sete do sexo feminino e animais entre os cinco e os vinte e um anos de idade (Tabela 5).

Tabela 4- Valores de OPG apresentados pelos animais do estudo à data da primeira colheita de amostras de fezes

Grupo	Animal	Valor de OPG
A	1	50
	2	8300
	3	150
	4	200
	5	350
B	6	100
	7	1350
	8	150
	9	250
	10	1050
C	11	50
	12	1450
	13	150
	14	200
	15	950

Tabela 5- Caracterização dos animais da amostra quanto à idade e ao sexo

Grupo	Animal	Idade	Sexo
A	1	9	Fêmea
	2	15	Fêmea
	3	10	Macho
	4	5	Fêmea
	5	15	Macho
B	6	6	Fêmea
	7	5	Fêmea
	8	8	Macho
	9	6	Fêmea
	10	9	Macho
C	11	14	Macho
	12	21	Macho
	13	7	Macho
	14	17	Fêmea
	15	10	Macho

Quanto à aptidão desportiva, dos quinze animais que constituíram a amostra, cinco animais praticavam Salto de Obstáculos, sete Dressage e dois CCE (Concurso Completo de Equitação), como se pode observar na tabela 6. O animal referido como número 2, já não se encontrava em trabalho.

Tabela 6 - Caracterização dos animais quanto à aptidão desportiva

Animal	Grupo	Aptidão desportiva
1	A	CCE
2		-
3		Dressage
4		Obstáculos
5		Obstáculos
6	B	Obstáculos
7		Dressage
8		Dressage
9		Dressage
10		CCE
11	C	Dressage
12		Dressage
13		Dressage
14		Obstáculos
15		Obstáculos

4.2.4. Período de colheita de material, tipo e sua conservação

A partir dos 15 equinos estabulados e naturalmente infectados com nematodes intestinais, foram colhidas amostras de fezes individuais, mais frescas quanto possível (Matthews, 2014), as quais se encontravam no material da cama das boxes. A colheita foi efetuada a cada 14 dias, no período de 21 de novembro de 2014 a 24 de abril de 2015. As amostras de fezes foram acondicionadas em sacos de plástico, os quais foram identificados, armazenadas temporariamente num frigorífico à temperatura de 4-5°C e transportadas o mais rapidamente possível numa geleira, com termoacumuladores, até ao laboratório da faculdade, onde eram analisadas nesse mesmo dia (Madeira de Carvalho, 2001). Antes de se procederem às análises coprológicas, cada amostra fecal foi homogeneizada (Matthews & Lester, 2015).

4.2.5. Análise coprológica

O diagnóstico, a nível microscópico, das parasitoses decorre mediante a utilização de técnicas quantitativas e qualitativas. Estas técnicas permitem determinar a existência/ausência de infeção parasitária gastrointestinal, quantificar e identificar os parasitas presentes nas fezes dos animais (Bowman, 2014). Neste estudo, a análise consistiu em análise coprológica quantitativa, utilizando o método de McMaster, e qualitativa, recorrendo aos métodos de Willis e de Sedimentação. Foram também realizadas coproculturas.

4.2.5.1. Métodos coprológicos quantitativos

4.2.5.1.1. Técnica de McMaster

Permite determinar qual o número de ovos por grama de fezes (OPG) (Nielsen, 2012). Após homogeneização das fezes, duas grama são diluídas e homogeneizadas em 28mL de solução de sacarose a 25% (Melo-Franco, et al., 2015). De seguida, o líquido é filtrado e colocado na câmara de McMaster, a qual é observada ao microscópio cinco minutos depois, tempo este que é necessário para que os ovos adiram à parte superior da câmara. Depois todos os ovos de parasitas são contados à visualização ao microscópio ótico com objectiva de 10X (Thienpont, Rochette & Vanparijs, 1986; Madeira de Carvalho, 2001).

O valor do número de ovos contados é multiplicado por 50 (limiar de deteção) de forma a obter o OPG (Melo-Franco, et al., 2015). Sempre que não se encontravam ovos à contagem, o animal era considerado negativo para a infeção parasitária.

4.2.5.2. Métodos coprológicos qualitativos

A identificação dos ovos parasitários decorreu com base nas suas características morfológicas (Thienpont, et al, 1986). Dada a semelhança morfológica dos ovos das superfamílias Strongyloidea e Trichostrongyloidea (Reinemeyer & Nielsen, 2013; Bowman, 2014), que dificulta muito a sua diferenciação, sempre que estes ovos estiveram presentes foram designados como ovos de estrongilídeos gastrointestinais (EGI) (Georgi, 1982).

Estes métodos baseiam-se na diferença de densidade entre os ovos e o meio em que se encontram.

4.2.5.2.1. Método de Willis

Com o líquido restante da técnica de McMaster, enche-se um tubo de ensaio, de modo a formar um menisco convexo e coloca-se uma lamela sobre este (Figura 14). Espera-se 15 minutos, para que os ovos, menos densos, flutuem, aderindo à face inferior da lamela.

Coloca-se a lamela sobre uma lâmina, observando-se ao microscópio (Thienpont, et al., 1986; Madeira de Carvalho, 2001; Melo-Franco, et al., 2015).

Figura 14 – Preparação da Técnica de Flutuação (Original)



4.2.5.2.2. Método de sedimentação

Neste método, os ovos mais densos do que o líquido contido no tubo de ensaio, vão depositar-se no fundo do mesmo, no sedimento. Assim, decorridos os 15 minutos já referidos, o sobrenadante do tubo de ensaio é eliminado. São colocadas 2 gotas de Azul de Metileno no sedimento do tubo e homogeneiza-se com uma pipeta de Pasteur. A aplicação do Azul de Metileno resulta numa coloração dos detritos da amostra de azul, que contrasta com o amarelo/castanho dos ovos, nos quais o corante não penetra (Kaufmann, 1996). Coloca-se uma gota do líquido numa lâmina, cobrindo-se a mesma com uma lamela (Figura 15). Visualiza-se a lâmina ao microscópio ótico com objectivas 4 e 40X (Thienpont, et al., 1986; Madeira de Carvalho, 2001; Melo-Franco, et al., 2015).

Figura 15- Técnica de Sedimentação (Original)



4.2.5.3. Coprocultura

Este método pretende dar condições de desenvolvimento aos ovos de strongilídeos até se poderem isolar larvas infectantes ou L3 e foi efectuado segundo Madeira de Carvalho (2001). Esta técnica compreende a colocação de fezes previamente homogeneizadas em copos identificados, que são pesados antes e após a colocação das fezes (sendo esses dados registados). De forma a garantir a oxigenação, é efectuado um orifício na amostra e os copos são cobertos com papel de alumínio, no qual se fazem furos (Figura 16). A existência de humidade adequada é outro requisito para o desenvolvimento larvar, assim é introduzida água nos copos e nos recipientes onde estes são colocados (Figura 17). Os recipientes com os copos são colocados numa estufa a 26^o-28C, para permitir a temperatura adequada, durante 14 dias, momento este em que são retirados (Reinemeyer & Nielsen, 2013). É retirado o papel de alumínio dos copos e estes enchem-se com água, coloca-se uma tampa de uma caixa de Petri por cima de cada um, inverte-se e põe-se água também na caixa de Petri (Figura 18). Durante 24h os copos permanecem assim para que, dado o foto e hidrotropismo positivo, as larvas migrem para o exterior do copo. Após as 24h, o líquido é recolhido para tubos de ensaio, indo a centrifugar durante 10 minutos a 1500 rpm, de modo a concentrar a amostra. O maior tempo de centrifugação prendeu-se com o fato de se esperar que o líquido recolhido contivesse um número reduzido de larvas. De seguida, é efectuada a diluição consoante o volume de sedimento (Figura 19).

Este método ao possibilitar a contagem e posterior identificação das formas larvares L3, apresenta como vantagem, face aos métodos coprológicos já descritos, o fato de permitir a diferenciação dos diversos parasitas das super-famílias Strongyloidea e Trichostrongyloidea (Bowman, 2014), bem como diferenciar os pequenos dos grandes strongilos (Reinemeyer & Nielsen, 2013), o que é de especial importância dado que estes parasitas têm diferentes patogenicidades, assim como a abundância proporcional dos diferentes géneros e espécies em 100 larvas, ou seja, a percentagem dos diferentes géneros e espécies em 100 larvas contadas.

O líquido é colocado entre lâmina e lamela, em alíquotas de 100 µl mediante a utilização de uma micropipeta, de forma a ser observado ao microscópio. A visualização ocorreu sempre no dia da sua obtenção. Identificaram-se as L3 (larvas infectantes) através da utilização de uma chave dicotómica que avalia características como: o tamanho, o rácio corpo/cauda, o número de células intestinais e a sua disposição (Tabela 7), entre outras (Ver Anexo 1) (Madeira de Carvalho, Fazendeiro & Afonso-Roque, 2004; 2007a; 2008). Para além disso e devido ao grande número de espécies que compreendem a subfamília Cyathostominae e à grande semelhança morfológica entre as mesmas, o género *Cyathostomum*, s.l. foi subdividido em 8 tipos larvares, de A a H, consoante a disposição, forma e número das células intestinais destas larvas infectantes (Madeira de Carvalho, 2001; Madeira de Carvalho, Fazendeiro & Afonso-Roque, 2004; 2007a; 2008).

Em cada amostra foram contabilizadas no mínimo 100 larvas L3 para determinação dos géneros e espécies mais abundantes (Madeira de Carvalho, 2001).

As coproculturas foram realizadas por amostragem de grupo, tendo sido realizadas duas coproculturas por cada grupo, em cada data de colheita. Em cada coprocultura foram introduzidas 15 gramas de fezes (previamente homogeneizadas) de cada animal do grupo, perfazendo um total de 75 grama por coprocultura (Kylvsgaard, et al., 2011; Nielsen, et al., 2014).

Figuras 16 e 17- Procedimento da técnica de coprocultura. Na figura 16 é possível visualizar os copos identificados contendo no seu interior a amostra e com o papel de alumínio já perfurado para garantir a oxigenação. Posteriormente esses copos são colocados num recipiente, colocando água no mesmo e nos copos, tal pode observar-se na figura 17. (Originais).



Figuras 18 e 19 – Continuação do procedimento da técnica de coprocultura. Na figura 18 os copos das coproculturas já foram invertidos na Placa de Petri, estando no período de 24 horas necessário à migração das larvas. Na figura 19, podemos ver os tubos de recolha do líquido das coproculturas após a diluição (Originais).



Tabela 7 – Número de células intestinais e seu arranjo nas larvas L3 dos parasitas da família Strongylidae (Madeira de Carvalho, Fazendeiro & Afonso-Roque, 2004; 2007a; 2008).

Tipo larvar	Nº células Intestinais	Arranjo das células intestinais
<i>Cyathostomum</i> spp. tipo A	8	2+6
<i>Cyathostomum</i> spp. tipo B	8	4+4
<i>Cyathostomum</i> spp. tipo C	8	2+2+4
<i>Cyathostomum</i> spp. tipo D	8	Fila única
<i>Cyathostomum</i> spp. tipo E	6	Variável
<i>Cyathostomum</i> spp. tipo F	7	Variável
<i>Cyathostomum</i> spp. tipo G	8	Variável
<i>Cyathostomum</i> spp. tipo H	9	Variável
<i>Gyalocephalus capitatus</i>	12	Fila dupla
<i>Oesophagodontus robustus</i>	16	Fila dupla
<i>Poteriostomum</i> spp.	16	Fila dupla
<i>Craterostomum acuticaudatum</i>	16	Fila dupla
<i>Triodontophorus serratus</i>	16	Fila dupla
<i>Strongylus equinus</i>	16	Fila dupla
<i>Strongylus edentatus</i>	16	Fila dupla
<i>Triodontophorus</i> spp.	18-20	Fila dupla
<i>Strongylus vulgaris</i>	28-32	Fila dupla
<i>Trichostrongylus axei</i>	16	Fila dupla

De modo a determinar o número de larvas por amostra, foi efectuado o cálculo do número de larvas por grama de fezes (LPG), utilizando a seguinte fórmula:

$$LPG = (N \times F) / P$$

LPG- Larvas Por Grama de fezes

N- Número de larvas em 100 µl

F- Fator de diluição para chegar ao volume de água total em µl

N*F= Número total de larvas L3 na amostra

P- Peso da amostra de fezes em g

Foi calculada a média do valor de LPG para cada grupo, durante o estudo.

Para determinar o grau de desenvolvimento dos ovos parasitários em larvas L3 na amostra analisada, efectuou-se o cálculo do rendimento:

$$\text{Rendimento (\%)} = \text{LPG} / \text{OPG} \times 100$$

4.2.6. Abundância dos diferentes géneros e espécies de parasitas encontrados

Com os dados obtidos através das coproculturas foi calculada a abundância proporcional de cada forma larvar encontrada (Bush, Lafferty, Lotz & Shostak, 1997). Este valor foi calculado para os três grupos formados, comparando-os entre si.

Utilizou-se a seguinte fórmula:

$$\text{Abundância proporcional (\%)} = (\text{N}^\circ \text{ total de larvas de um género ou espécie} / \text{Total de larvas da amostra}) \times 100$$

Calculou-se também a abundância média de cada género/espécie larvar encontrados no decorrer do estudo.

4.2.7. Desparasitante

A desparasitação dos animais realizou-se por via oral com uma pasta com ivermectina a 1,87% (Eqvalan®), com base na determinação do seu peso através da utilização de uma fita EasyMeasure®, na dose de 0.2mg/kg p.v..

4.2.8. Desparasitação

Durante o estudo oito animais foram desparasitados, um dos quais duas vezes. É possível consultar na tabela 8 as datas em que as desparasitações ocorreram.

Tabela 8- Exibição da data de desparasitação para cada animal desparasitado e do respectivo grupo a que pertence.

Animal	Grupo	Data de desparasitação	
2	Grupo A	5-dez-2014	27-mar-2015
4		19-dez-2014	
5		5-dez-2014	
6	Grupo B	5-dez-2014	
7		5-dez-2014	
8		5-dez-2014	
9		5-dez-2014	
10		5-dez-2014	

4.2.9.Determinação do número de Ovos por Grama de Fezes

Como já foi referido, o valor de OPG é conseguido através do método de McMaster. O valor de cada amostra é obtido multiplicando por 50 o número de ovos de parasitas visualizados através da técnica de McMaster, dado que este é o limiar de deteção de ovos de parasitas desta técnica (Melo-Franco, et al., 2015).

Para este parâmetro também foi calculada a média e a mediana para cada grupo, de modo a poder compará-los.

4.2.10. Classificação do nível de infeção parasitária

De acordo com a média do OPG, apresentado nas duas primeiras colheitas de fezes realizadas (dado que os valores foram muito discrepantes), classificou-se os animais relativamente ao grau de infeção parasitária: quando o OPG é inferior a 500, o nível de infeção é leve; de 500-1000 OPG considera-se o nível de infeção médio; se o valor de OPG for superior a 1000 o nível de infeção é forte (Madeira de Carvalho, 2001). Foi, também verificada qual a distribuição dos animais de cada grupo pelos diferentes níveis de infeção parasitária no início, no meio e no final do estudo.

4.2.11. Avaliação da eficácia do tratamento antihelmíntico

Foi realizada, segundo recomendações da W.A.A.V.P., recorrendo ao Teste de Redução de Contagem de Ovos Fecais (TRCOF) (Coles, et al., 1992, 2006). Este método compara os OPG's anteriores e posteriores ao tratamento, sabendo que o intervalo entre a determinação dos referidos OPG's é de 14-17 dias para as lactonas macrocíclicas (Coles, et al., 2006). Os OPG's são determinados através do Método de McMaster (Nielsen, 2012).

Quando o TRCOF é igual ou superior a 95% as lactonas macrocíclicas são consideradas eficazes e no caso da ivermectina, existe resistência se o resultado obtido for menor que 90% (Reinemeyer, 2009; Stratford, et al., 2011; Matthews & Lester, 2015).

A fórmula utilizada foi a seguinte:

$$\text{TRCOF (\%)} = 100 (1 - (\text{OPG}^{14}/\text{OPG}^0))$$

OPG⁰- Valor de OPG no dia da desparasitação

OPG¹⁴- Valor do OPG no 14º dia após a desparasitação

Este procedimento foi efectuado para todos os grupos enquanto em simultâneo eram efetuadas também as análises qualitativas atendendo a que o limiar de deteção do método de McMaster é de 50 OPG.

4.2.11.1. Determinação do Período de Reaparecimento de Ovos

Neste estudo e como parte integrante da avaliação da eficácia do antihelmintico, calculou-se também o Período de Reaparecimento de Ovos (PRO). O valor do PRO representa o intervalo de tempo que decorre desde o dia em que o animal é sujeito à desparasitação até se obter uma nova amostra com OPG positivo, no método de McMaster (Reinemeyer & Nielsen, 2013). Este valor foi calculado para todos os animais que foram desparasitados, os quais pertenciam aos grupos A (desparasitação seletiva) e B (desparasitação estratégica). Para estes grupos foi calculado o valor da média e da mediana do PRO, comparando-se os resultados obtidos.

4.2.12. Determinação da média e da mediana do número de animais positivos nos métodos coprológicos qualitativos

Calculou-se a média e a mediana do número de animais positivos a ovos de EGI e *Parascaris* spp. para cada grupo, durante o estudo.

Foi calculado o erro padrão da média para o OPG, para o PRO e para a abundância média de cada género larvar encontrado no decorrer do estudo.

4.2.13. Análise de custo/benefício

Verificou-se qual o custo/benefício do método de desparasitação seletiva face ao método de desparasitação estratégica, implementados no grupo A e B, respectivamente, e também qual seria o custo/benefício caso se aplicasse a estratégia de desparasitação seletiva a todos os animais da amostra em detrimento do método em uso.

A análise consistiu na avaliação das despesas com os desparasitantes, de preço unitário de 12,99 €, e com as análises coprológicas, nomeadamente a técnica de McMaster, cuja realização é imprescindível na aplicação do método de desparasitação seletiva uma vez que permite obter o valor de OPG ≥ 200 (Nielsen, 2012) de modo a determinar se o animal é ou não desparasitado. A técnica de McMaster tem o custo de 12,20€ quando recorrendo aos serviços do Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias (LPDP), da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa.

Nos cálculos não se consideraram custos com o método de McMaster para o grupo B, pois a aplicação do programa de desparasitação estratégica decorreu de forma cega, sem conhecimento da informação acerca do parasitismo no efectivo, no local do estudo. Esta prática será analisada mais à frente no capítulo “Discussão”.

4.2.14. Registo e Análise de dados

Todos os dados recolhidos ao longo do estudo foram introduzidos e armazenados no programa Excel 14.0.7153.5000 ©2010 Microsoft Corporation, sendo posteriormente analisados utilizando o mesmo programa e também recorrendo ao software R®, nomeadamente à sua biblioteca commander. Através do programa R® (3.2.0, Copyright (C) 2015) aplicaram-se testes estatísticos aos dados obtidos. Os testes estatísticos usados são não-paramétricos, dada a distribuição não normal dos dados obtidos. Para verificar se havia correlação entre duas variáveis quantitativas - OPG e LPG; OPG e PRO; OPG e variáveis climatológicas (temperatura média, humidade relativa média e precipitação média) - foi utilizado o teste de Spearman (Becher, Mahling, Nielsen & Pfister, 2010). De forma a avaliar a correlação entre o OPG e as variáveis climatológicas, foram considerados apenas os valores de OPG do grupo de controlo (grupo C), pois nos outros grupos o valor de OPG foi afectado pelos tratamentos antihelmínticos instituídos.

De modo a verificar se existiam diferenças entre os grupos A e B para a variável PRO recorreu-se ao teste de Wilcoxon. Utilizou-se o teste de Kruskal-Wallis para avaliar se existiam diferenças entre os grupos constituintes da amostra (A, B e C) relativamente às variáveis: valor de OPG, LPG e rendimento larvar (Rózsa, Reiczigel & Majoros, 2000; Becher et al., 2010). Para todos os testes o nível de significância foi de $p < 0,05$.

4.3. RESULTADOS

4.3.1. Ovos por Grama de Fezes

Verifica-se que não existe diferença entre a média do valor de OPG (Gráfico 1) dos grupos A (desparasitação seletiva) e B (desparasitação estratégica), mas existe entre estes e o grupo C (grupo de controlo). Os grupos A e B apresentam média de OPG nula entre 19 de dezembro e 13 de fevereiro, e posteriormente os valores da média de OPG são muito inferiores aos que se poderam verificar no início do estudo, não ultrapassando os 180 OPG (Tabela 9). Já no grupo C a média de OPG situou-se entre 500 e 2400, durante o estudo.

Relativamente à mediana do OPG, os grupos A e B diferenciam-se do grupo C (Gráfico 2) : este grupo apresenta mediana de OPG positiva ao longo de todo o estudo, com valores mínimos e máximo de OPG 200 e 1000: nos grupos A e B o valor da mediana de OPG é zero a partir de 19 de janeiro, inclusivé.

Os gráficos 1 e 2 correspondem respectivamente à representação da média e da mediana do OPG dos grupos A (desparasitação seletiva), B (desparasitação estratégica) e C (grupo controlo), cujos dados se apresentam na tabela que se segue.

Tabela 9- Resumo dos dados da média e mediana de OPG de cada grupo, no decorrer do estudo

Cálculo	Grupo	Data das colheitas das amostras de fezes											
		21-nov	05-dez	19-dez	02-jan	16-jan	30-jan	13-fev	27-fev	13-mar	27-mar	10-abr	24-abr
Média	Grupo A	1810	590	50	0	0	0	0	10	80	180	30	20
	Grupo B	580	380	0	0	0	0	0	20	30	60	50	60
	Grupo C	560	676	790	850	780	750	1040	940	870	1400	1120	2310
Mediana	Grupo A	200	300	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Grupo B	250	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Grupo C	200	750	500	450	650	900	1000	1000	550	1300	1250	1900

Gráfico 1- Representação dos valores médios de OPG de cada grupo (As barras representam o erro padrão da média).

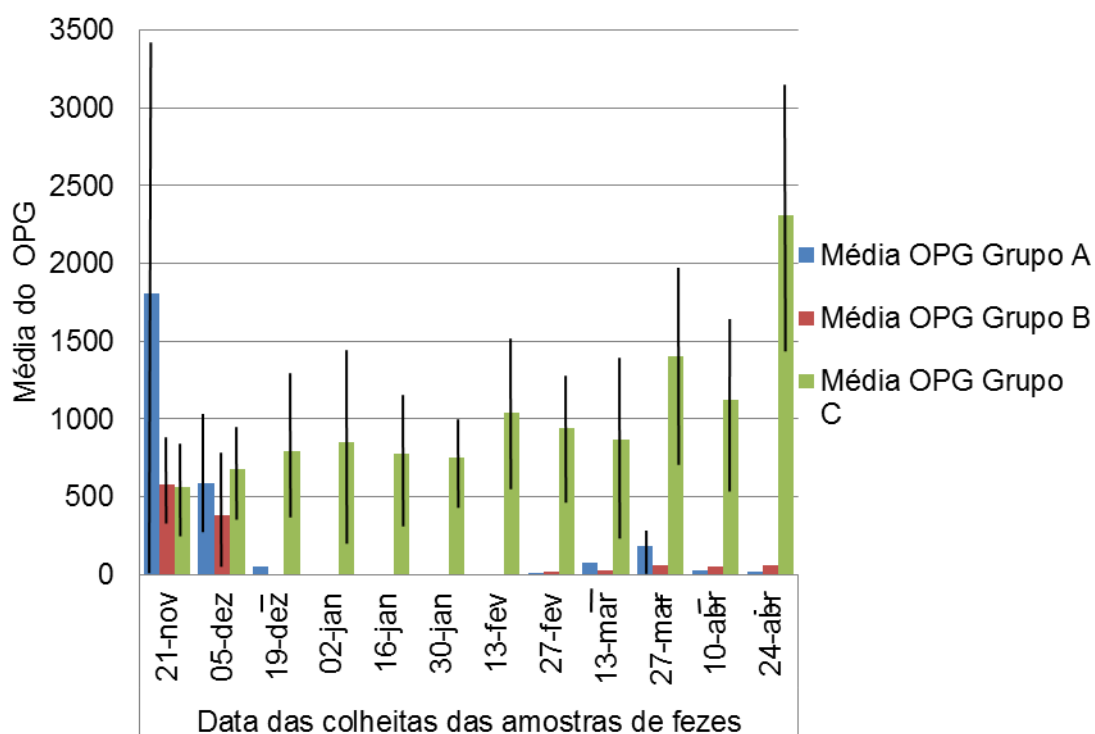
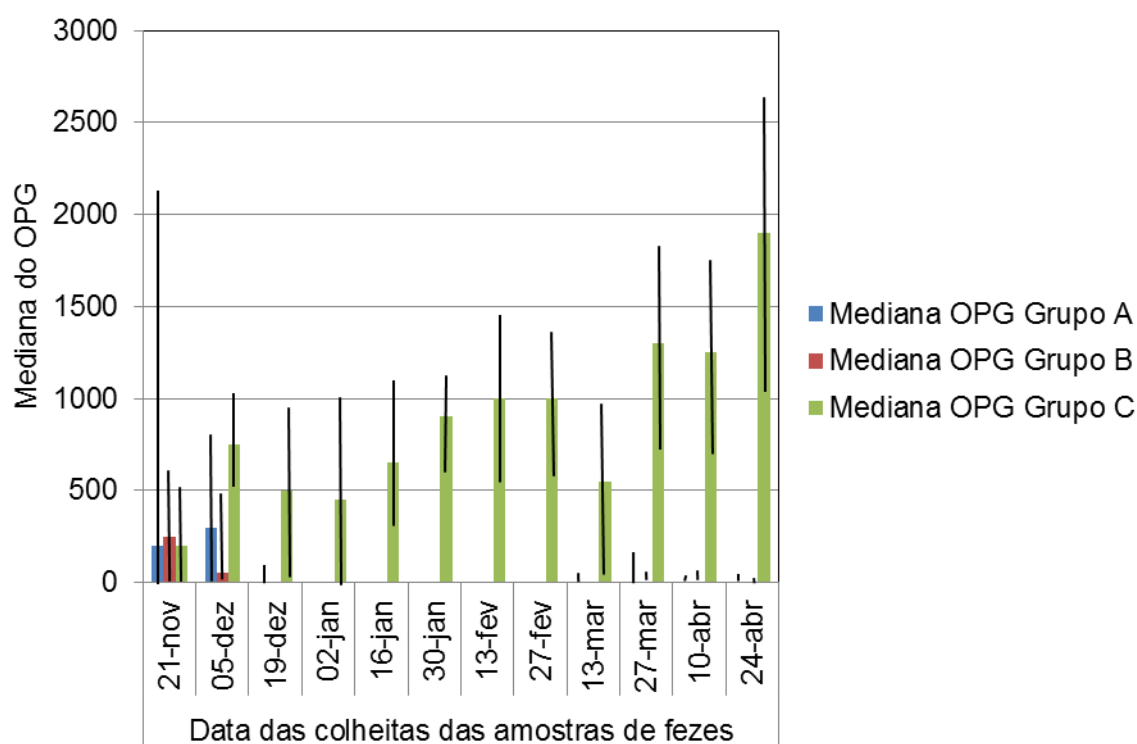


Gráfico 2- Representação dos valores medianos de OPG de cada grupo (As barras representam o erro padrão da média).

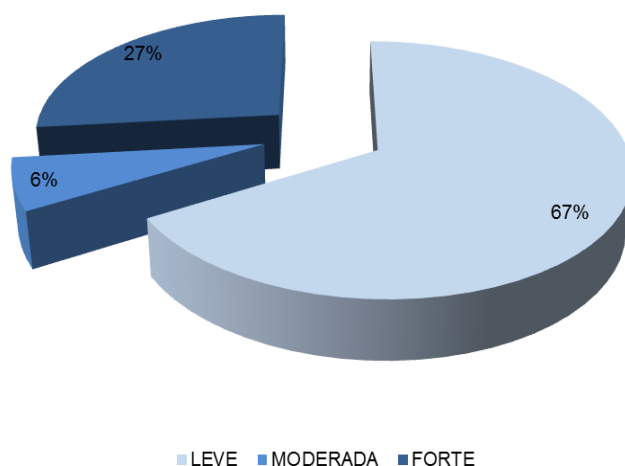


Utilizando o teste Kruskal-Wallis, verificou-se que o grupo influencia o valor de OPG ($p\text{-value} = 2.046^{-15}$), ou seja, existem diferenças significativas entre os grupos, nomeadamente entre os grupos A e B com o grupo C.

4.3.1.1. Classificação do nível de infecção parasitária

Os equinos apresentaram níveis variados de infecção parasitária (Gráfico 3), no início do estudo, no entanto a sua maioria, 67% dos animais da amostra, apresentava OPG inferior a 500, tendo portanto uma infecção leve. As infecções moderadas (500 a 1000 OPG) e fortes (OPG superior a 1000) representaram, respetivamente, 6% e 27% da amostra.

Gráfico 3- Representação do nível de infecção parasitária que os animais que constituíam a amostra apresentavam no início do estudo (05/11/2014)



Nas tabelas 10, 11 e 12 é possível observar qual o nível de infecção parasitária apresentado pelos animais de cada grupo no início do estudo (Tabela 10), no meio do estudo (Tabela 11) e no final do estudo (Tabela 12).

Verificou-se que a maioria dos animais (60% nos grupos B e C e 80% no grupo A) apresentou um nível de infecção parasitária leve no início do estudo. A 30 de janeiro, data posterior às desparasitações efetuadas, nos grupos A (desparasitação seletiva) e B (desparasitação estratégica) não existia infecção parasitária. Durante o estudo, no grupo C o número de animais que apresentava um nível de infecção leve diminuiu a par do aumento do número de equinos cujo nível de infecção era forte. Para os grupos A e B, no final do estudo, observou-se que para os animais que apresentavam OPG positivo o nível de infecção parasitária era leve.

Tabela 10- Representação do nível de infecção parasitária, por grupo, no início do estudo (21/11/2014)

Grupo	Nível de infecção		
	Leve	Moderada	Forte
A	4	0	1
B	3	0	2
C	3	1	1

Tabela 11- Representação do nível de infecção parasitária, por grupo, no meio do estudo (30/01/2015)

Grupo	Nível de infecção		
	Leve	Moderada	Forte
A	0	0	0
B	0	0	0
C	2	1	2

Tabela 12- Representação do nível de infecção parasitária, por grupo, no final do estudo (24/04/2015)

Grupo	Nível de infecção		
	Leve	Moderada	Forte
A	1	0	0
B	2	0	0
C	1	0	4

4.3.1.2. OPG e o clima

Uma vez que se dispôs de dados meteorológicos relativos ao período do estudo, para a cidade mais próxima, Lisboa, avaliou-se qual a influência do clima na eliminação de ovos, nomeadamente no valor de OPG (ovos por grama de fezes) (Tabela 13).

O teste de Spearman permitiu concluir que o valor de OPG tem uma correlação negativa com a precipitação, sendo essa correlação fraca relativamente aos valores de precipitação média na década de colheita ($\rho=-0.230$) e no mês anterior ($\rho=-0.146$). A precipitação média onze meses antes da data da colheita das amostras de fezes, possui também correlação negativa com o valor de OPG mas moderada ($\rho=-0.578$). Ou seja, valores mais elevados de precipitação média, com particular importância os valores que se fizeram sentir onze meses antes da colheita da amostra, induzem um menor valor de OPG.

Quanto à temperatura, existe correlação positiva forte ($\rho=0.735$), moderada ($\rho=0.517$) e negativa fraca ($\rho=-0.161$) relativamente à temperatura onze meses antes, no mês anterior e na década da colheita, respetivamente. As temperaturas mais altas são acompanhadas de

valores mais altos de OPG, manifestando novamente maior relevância os valores referentes a onze meses antes da colheita da amostra.

Por fim, a humidade relativa (HR) correlaciona-se negativamente com o valor de OPG, sendo a correlação muito forte ($\rho = -0.923$) relativamente aos valores de humidade relativa onze meses antes da data da colheita das amostras de fezes e fraca quanto aos valores de HR no mês anterior ($\rho = -0.167$) e na década da colheita ($\rho = -0.209$). Ou seja, os valores de OPG são menores na presença de valores de humidade relativa mais elevados.

Tabela 13- Resultados dos testes de correlação, teste de Spearman, do número de ovos por grama de fezes com os dados meteorológicos

Dado climatológico em análise quanto à correlação com o OPG	Teste de Spearman (Valor de Rho)
Temperatura média na década da colheita	-0.161
Temperatura média no mês anterior à colheita	0.517
Temperatura média onze meses antes da colheita	0.735
Humidade relativa na década da colheita	-0.209
Humidade relativa no mês anterior à colheita	-0.167
Humidade relativa onze meses antes da colheita	-0.923
Precipitação média na década da colheita	-0.230
Precipitação média no mês anterior à colheita	-0.146
Precipitação média onze meses antes da colheita	0.578

4.3.2. Métodos coprológicos qualitativos

No decorrer do estudo, verificou-se que sempre que os animais apresentaram ovos identificáveis nos métodos qualitativos, estavam infectados com estrongilídeos. À data da última colheita de amostras de fezes, foi possível identificar inúmeros ovos de *Parascaris* spp. em dois animais, um do grupo B (desparasitação estratégica) e outro do grupo C (grupo de controlo). No método de Willis, foram identificados ovos de EGI (Figura 20) e também de *Parascaris* spp. (Figuras 21 e 22).

Figura 20– Ovo do tipo strongilídeo, obtido pelo método de Willis (Ampliação 10x40) (Original)



Figuras 21 e 22 - Ovos de *Parascaris* spp., obtidos pelo método de Willis. De notar que, na figura 22 o ovo que aparece à direita perdeu a sua periferia rugosa devido à rutura da sua casca (Ampliação 10x40) (Original)



Na tabela que se segue (Tabela 14) resumem-se os resultados obtidos pelo método de Willis nas amostras de fezes colhidas nas diferentes datas. Através da sua observação é possível verificar que em todas as amostras coprológicas dos animais pertencentes ao grupo controlo foram identificados ovos de strongilídeos gastrointestinais (EGI). Nos grupos A (desparasitação seletiva) e B (desparasitação estratégica) o número de animais em cuja amostra de fezes eram identificados EGI variou, chegando a ser zero em algumas colheitas. No grupo B o método de Willis foi negativo à presença de ovos de parasitas num maior número de colheitas comparativamente ao grupo A (desparasitação seletiva).

Na última colheita de amostras de fezes realizada foram identificados ovos de *Parascaris* spp. em dois animais da amostra, um do grupo B (desparasitação estratégica) e outro do grupo C (controlo).

Tabela 14- Resultados obtidos através do método de Willis para os grupos A (desparasitação seletiva) e B (desparasitação estratégica) durante o estudo.

Data da colheita das amostras de fezes	Método de Willis					
	Grupo A		Grupo B		Grupo C	
	Número de animais positivos a ovos de EGI	Número de animais positivos a ovos de <i>Parascaris</i> spp.	Número de animais positivos a ovos de EGI	Número de animais positivos a ovos de <i>Parascaris</i> spp.	Número de animais positivos a ovos de EGI	Número de animais positivos a ovos de <i>Parascaris</i> spp.
21-nov-2014	5	0	5	0	5	0
05-dez-2014	5	0	5	0	5	0
19-dez-2014	3	0	0	0	5	0
02-jan-2015	2	0	0	0	5	0
16-jan-2015	0	0	0	0	5	0
30-jan-2015	0	0	0	0	5	0
13-fev-2015	2	0	1	0	5	0
27-fev-2015	3	0	3	0	5	0
13-mar-2015	5	0	4	0	5	0
27-mar-2015	5	0	5	0	5	0
10-abr-2015	4	0	3	0	5	0
24-abr-2015	3*	0	5	1	5	1

*Não foram recolhidas fezes de dois animais do grupo nesta data.

No método de sedimentação também foram encontrados ovos de EGI (Figura 23), e de *Parascaris* spp. (Figuras 24 e 25), embora tenha sido um achado casual, dado que o método mais adequado para a sua pesquisa é o método de Willis.

Este método foi negativo para ovos de *Fasciola* sp. e *Anoplocephala* sp., para qualquer dos três grupos em estudo.

Observando o gráfico 4, podemos verificar que para o grupo C (controlo) a média e a mediana do número de animais positivos a ovos de EGI foi superior à dos grupos A (desparasitação seletiva) e B (desparasitação estratégica). A mediana foi igual para os grupos A (desparasitação seletiva) e B (desparasitação estratégica) e a média ligeiramente superior no grupo A.

Quanto à identificação de ovos de *Parascaris* spp., a mediana do número de animais positivos foi de zero para todos os grupos (Gráfico 5). A média foi igual para os grupos B (desparasitação estratégica) e C (controlo) e zero para o grupo A.

Gráfico 4- Representação dos valores médios e medianos de ovos de EGI identificados através dos métodos quantitativos, para cada grupo.

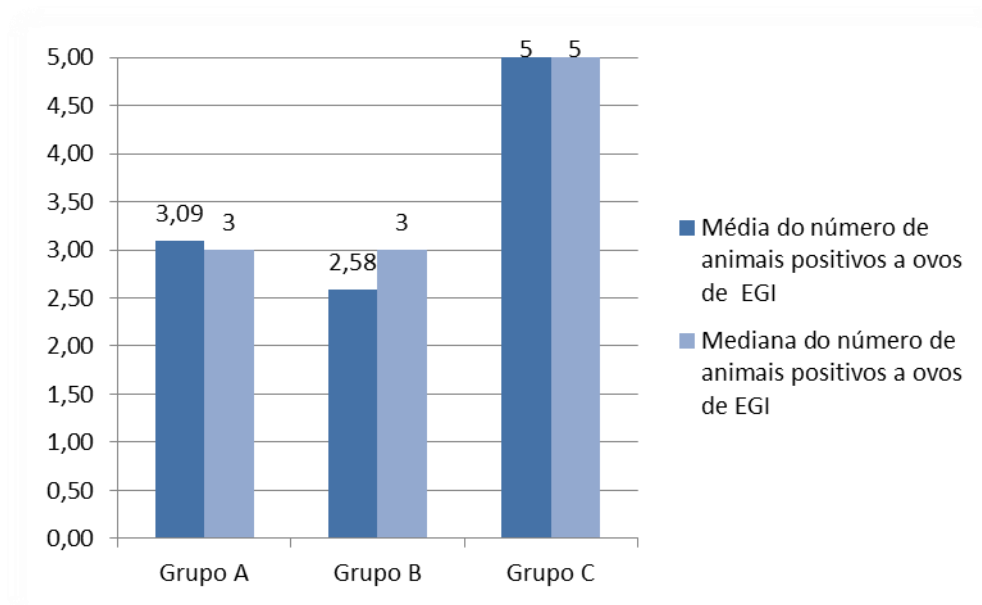


Gráfico 5- Representação dos valores médios e medianos de ovos de *Parascaris* spp. identificados através dos métodos quantitativos, para cada grupo

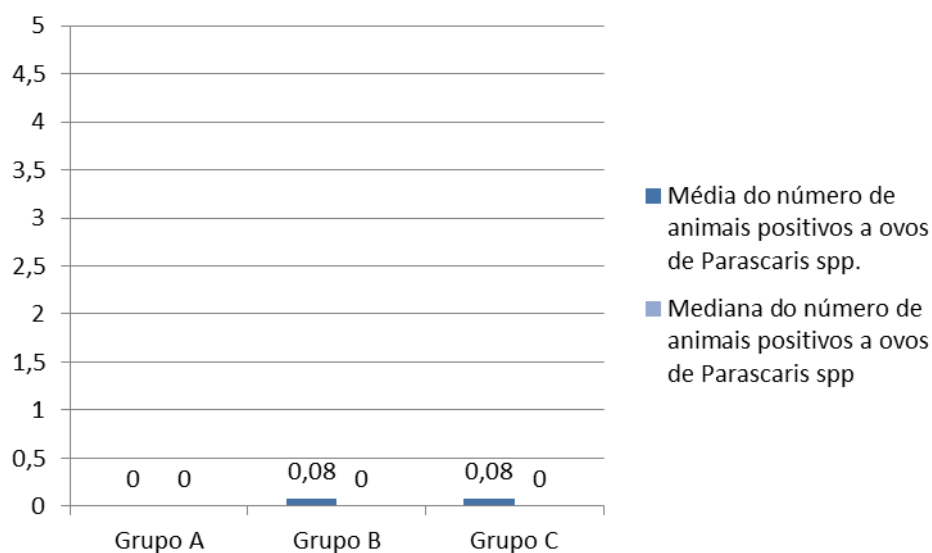
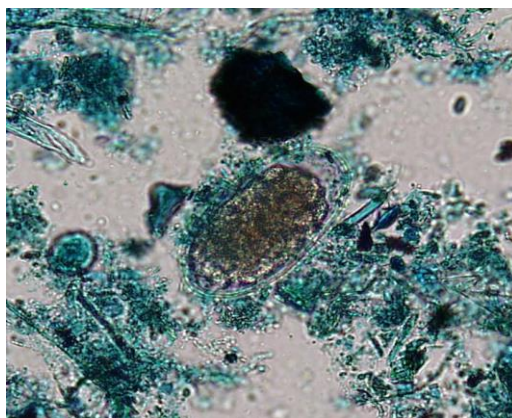
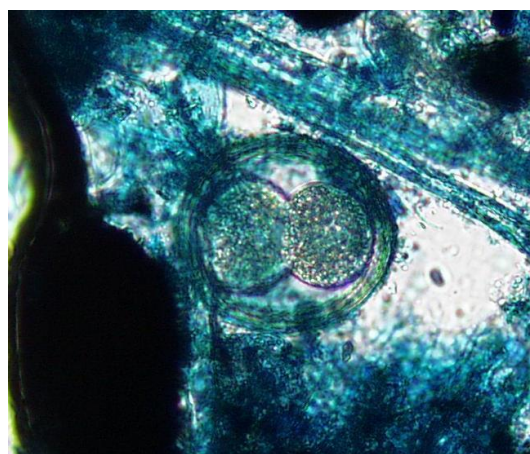
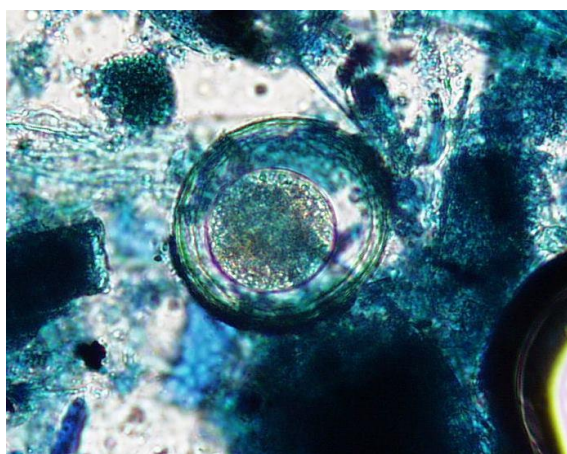


Figura 23 – Ovo do tipo strongilídeo, obtido através da técnica de sedimentação (Ampliação 10x40) (Original)



Figuras 24 e 25 - Ovos de *Parascaris* spp., obtidos pela técnica de sedimentação, Na figura é possível visualizar o ovo já numa fase avançada, na sua divisão celular (Ampliação 10x40) (Original)



Os dois equinos que pertenciam aos grupos B (desparasitação estratégica) e C (grupo controlo), nos quais foi possível identificar os ovos do parasita *Parascaris* sp., apresentaram como valor para os referidos ovos um OPG <50 (negativo no método de McMaster) e um OPG=3000, respetivamente. Em nenhuma outra data e em nenhum outro equino, foram identificados ovos de *Parascaris* spp. no método quantitativo de McMaster.

4.3.3. Avaliação da eficácia do tratamento antihelmíntico

Recorrendo ao TRCOF verificou-se que o fármaco utilizado, Eqvalan® (Ivermectina 1,87%), é extremamente eficaz, dado que o valor obtido no TRCOF foi de 100%, em todas as desparasitações efetuadas nos grupos A (desparasitação seletiva) e B (desparasitação estratégica).

4.3.3.1. Período de Reaparecimento de Ovos

Foi possível verificar que os grupos A (desparasitação seletiva) e B (desparasitação estratégica) voltaram a apresentar ovos após o tratamento, e que o grupo A foi o primeiro em que isso ocorreu.

Em ambos os grupos, houve animais (um do grupo A e dois do grupo B) que não voltaram a apresentar ovos em certas datas de colheita, durante o período em que decorreu este estudo, tendo esses animais sido desparasitados em 19 de dezembro e 05 de dezembro, respetivamente. Para estes animais não foi possível realizar o cálculo do período de reaparecimento de ovos (PRO).

Relativamente à média aritmética do período de reaparecimento (PRO), esta foi de 105 dias no grupo A (desparasitação seletiva). Nos animais do grupo B (desparasitação estratégica) a média aritmética do PRO foi de 98 dias, como se pode verificar pela análise do gráfico (Gráfico 6). Quanto à mediana dos valores do PRO, esta foi de 105 e 98, para os grupos A e B, respectivamente (Gráfico 7). Ou seja, no grupo A o PRO foi superior ao do grupo B em uma semana.

Gráfico 6- Representação da média aritmética do período de reaparecimento de ovos (PRO) para o grupo A (desparasitação seletiva) e para o grupo B (desparasitação estratégica) (As barras representam o erro padrão da média).

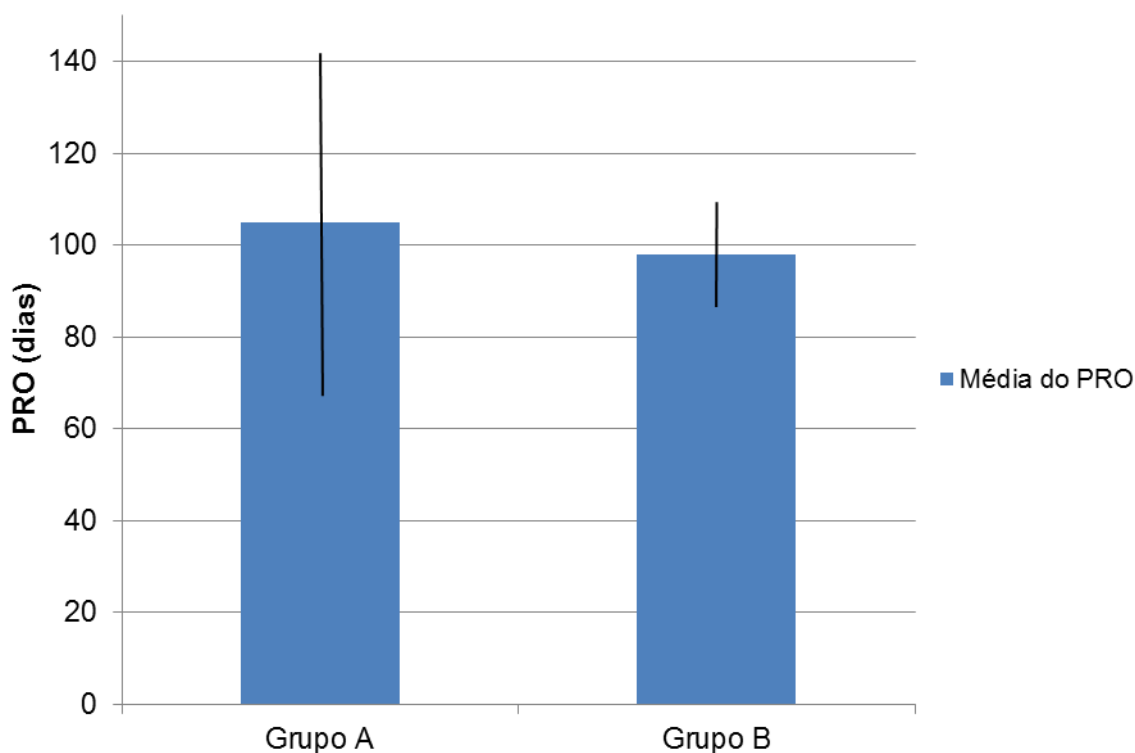
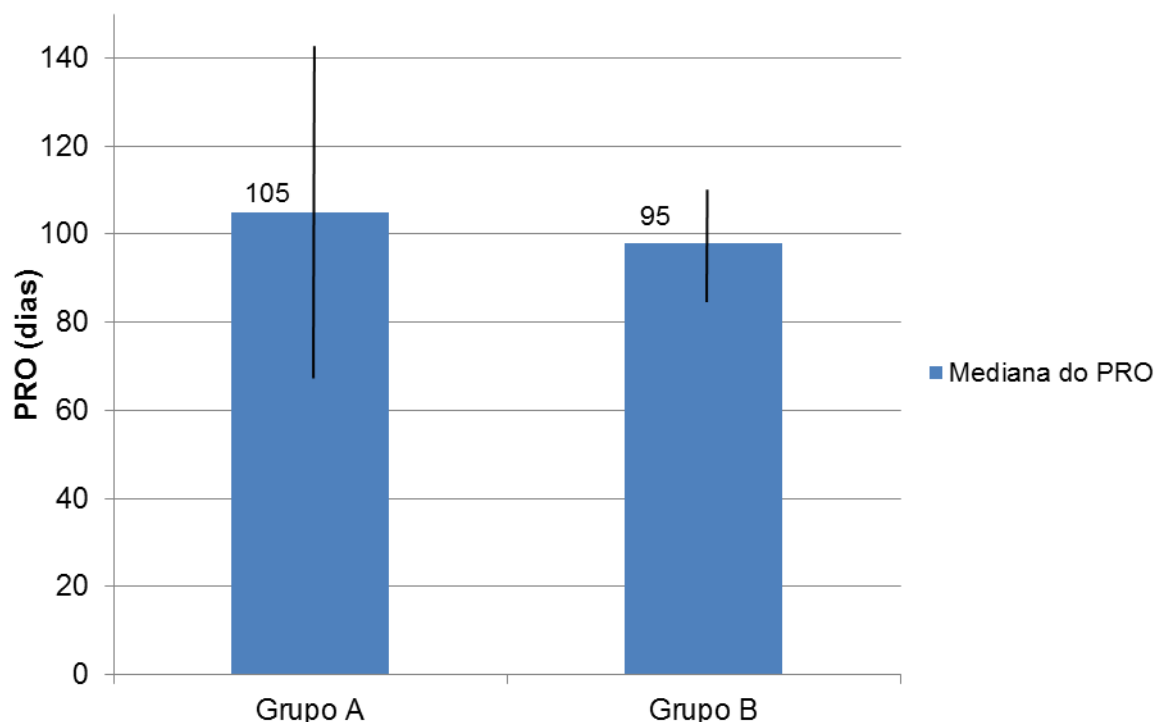


Grafico 7- Representação da mediana do período de reaparecimento de ovos (PRO) para o grupo A (desparasitação seletiva) e para o grupo B (desparasitação estratégica) (As barras representam o erro padrão da média).



Verificou-se que não há diferenças significativas entre os grupos A e B quanto à média aritmética e à mediana da variável PRO (p-value = 1), ou seja estes dois grupos apresentam um PRO semelhante.

4.3.3.1.1. PRO e OPG

Avaliou-se se existia correlação do valor do OPG no dia da desparasitação com a dimensão do período de reaparecimento de ovos, concluindo-se que há correlação moderada negativa entre as duas variáveis ($\rho = -0.5642881$), ou seja, variam inversamente, um valor superior de OPG associa-se a um menor PRO.

4.3.4. Coproculturas

4.3.4.1. Géneros e Espécies de parasitas encontrados

Em todas as coproculturas positivas encontravam-se estrongilídeos, os únicos parasitas identificados no decorrer deste estudo nas culturas fecais.

Os parasitas identificados nas coproculturas com base na identificação de L3 foram *Cyathostomum* spp. tipos A, C (Figura 30) e D. Também foram encontrados *Gyalocephalus*

capitatus, *Poteriostomum* spp. e *Strongylus vulgaris*. No total das amostras coprológicas positivas à presença de larvas de parasitas, todas apresentaram *Cyathostomum s.l.*.

Figura 26- Larvas do estágio 3 de *Cyathostomum* spp., do tipo C (em cima) e A (à esquerda em baixo) (Ampliação 10x10) (Original).



Verificou-se que no grupo B (desparasitação estratégica), no qual todos os equinos foram desparasitados no dia 5 de dezembro, só foi possível voltar a identificar larvas nas culturas fecais do dia 13 de fevereiro (duas larvas de *Cyathostomum* spp. tipo A). No grupo A (desparasitação seletiva), mesmo após a desparasitação continuaram a ser identificáveis larvas de estrongilídeos (Tabela 15).

Tabela 15- Larvas de parasitas identificadas nas coproculturas do grupo A (desparasitação seletiva) desde que se praticou a desparasitação até à data de reaparecimento de ovos nas fezes, exclusivé

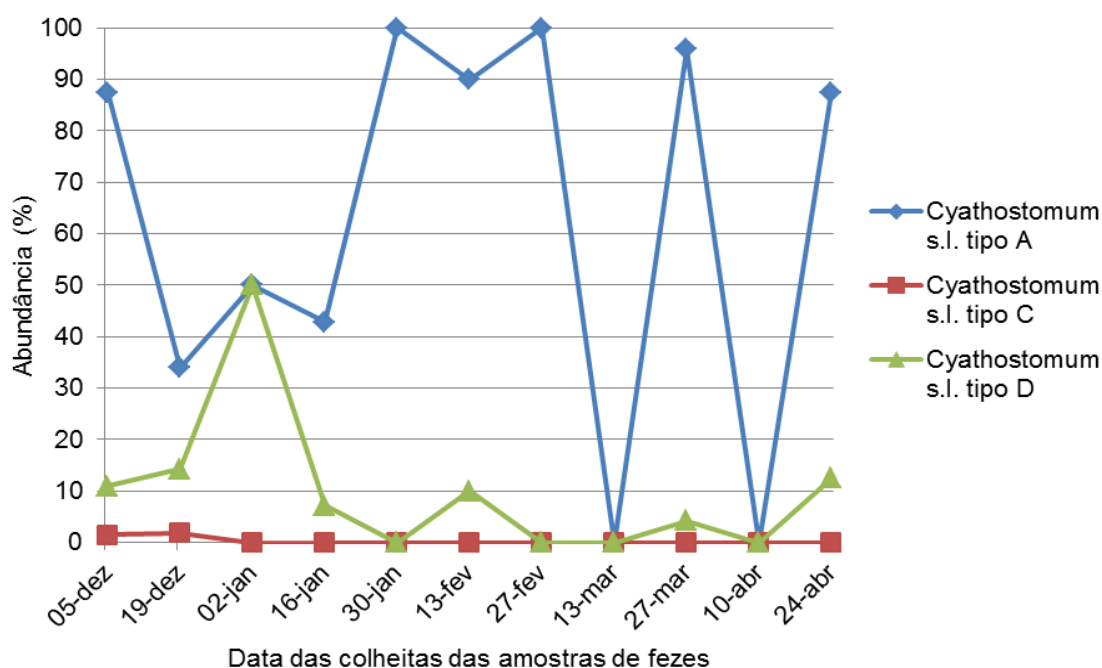
Data da realização da coprocultura	<i>Cyathostomum</i> spp. tipo A	<i>Cyathostomum</i> spp. tipo C	<i>Cyathostomum</i> spp. tipo D
19-dez-2014	10	1	4
2-jan-2015	1	0	1
16-jan-2015	6	0	1
30-jan-2015	5	0	0
13-fev-2015	5	0	1

4.3.4.1.1. Abundância dos diferentes géneros e espécies de parasitas encontrados

4.3.4.1.1.1. Abundância proporcional

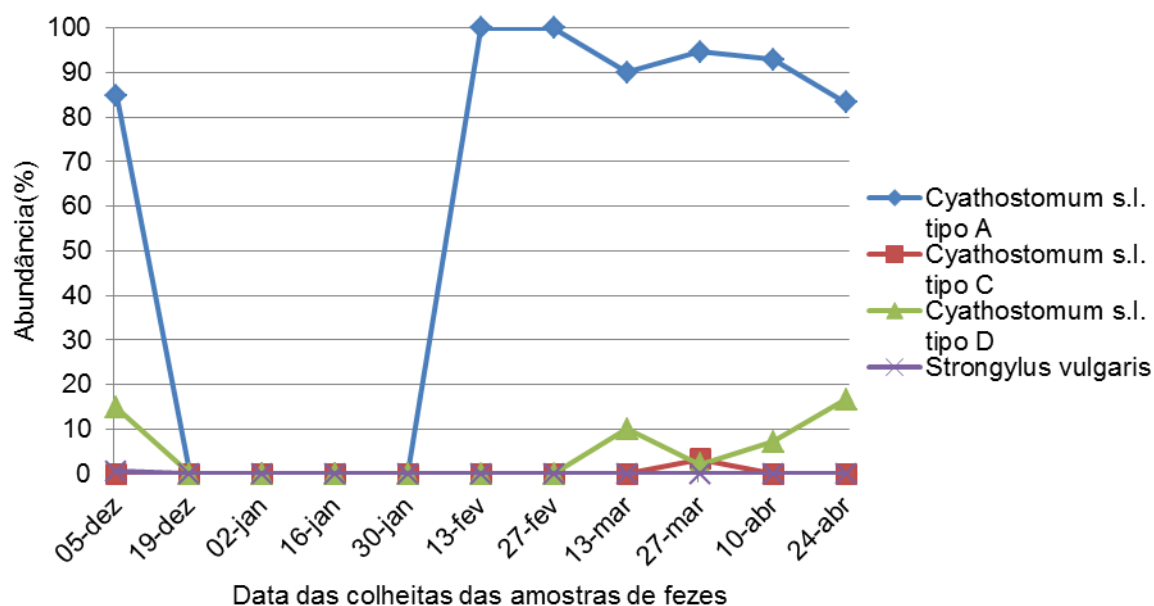
No grupo A (desparasitação seletiva) apenas foram identificados *Cyathostomum s.l.* (Gráfico 8). Durante o estudo *Cyathostomum* spp. tipo A, foi a L3 mais abundante (30 a 100%), seguido de *Cyathostomum* spp. tipo D (0 a 50%). Quanto a *Cyathostomum* spp. tipo C a sua abundância foi muito baixa, assumindo valores de 0% e muito próximos de 0%. Nos dias 13 de março e 10 de abril, não se identificaram larvas de estrongilídeos.

Gráfico 8- Abundância dos géneros de estrongilídeos identificados no grupo A (desparasitação seletiva)



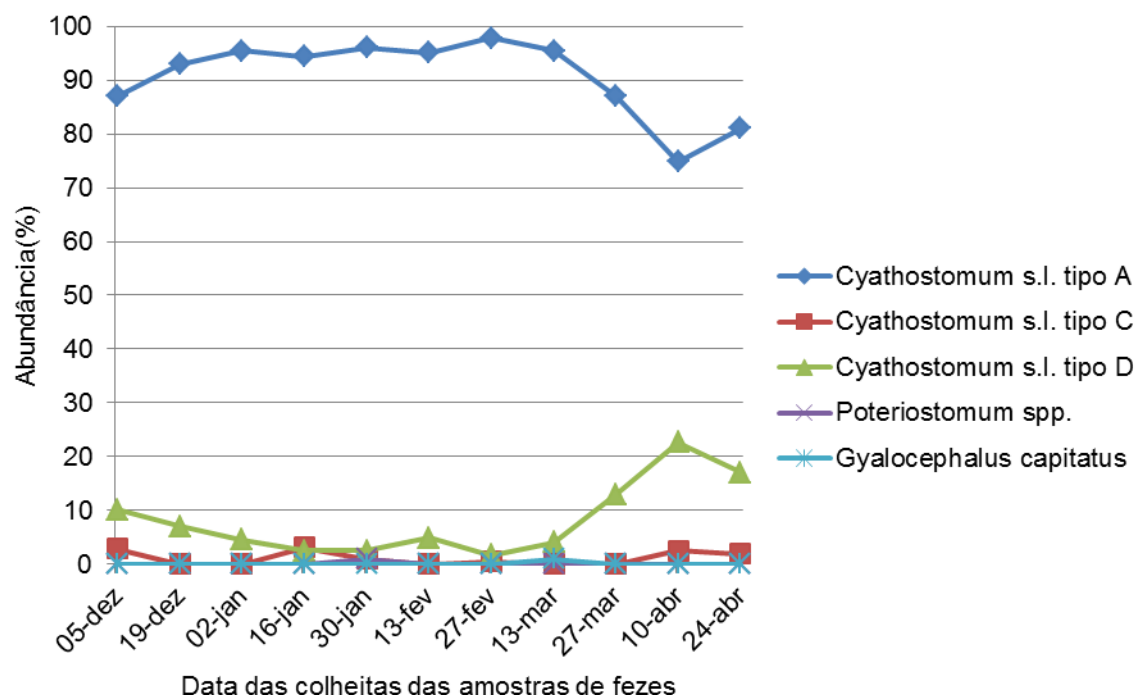
Nas coproculturas realizadas, no grupo B (desparasitação estratégica), foi possível identificar *Cyathostomum s.l.* e *Strongylus vulgaris* (Gráfico 9). O último parasita referido apenas esteve presente na coprocultura realizada a partir das fezes recolhidas no dia 5 de dezembro, com abundância muito reduzida (0,6%). A abundância de *Cyathostomum* spp. tipo A foi de cerca 90% na primeira colheita de fezes efetuada, de 19 de dezembro a 30 de janeiro a abundância foi de 0% e em 13 de fevereiro atingiu 100%, tendo apresentado tendência decrescente a partir dessa data. As L3 de *Cyathostomum* spp. tipo D foram pouco abundantes neste grupo (0 a 17%), não sendo identificado no período de 19 de dezembro até 13 de março. Por fim, as L3 de *Cyathostomum* spp. tipo C apenas foram identificadas na coprocultura referente a 27 de março (3%).

Gráfico 9- Abundância das espécies de parasitas identificadas no grupo B (desparasitação estratégica)



Por fim, nas coproculturas correspondentes ao grupo C, foram identificados *Cyathostomum* spp. tipos A, C e D; *Gyalocephalus capitatus* e *Poteriostomum* spp. como está representado no gráfico 10. A presença de cada um dos últimos parasitas referidos apenas ocorreu uma vez durante o estudo, com abundância de 1%. Quanto ao *Cyathostomum* spp. o tipo A foi o mais abundante com valores de 80 a 100%, aproximadamente, o *Cyathostomum* spp. tipo D apresentou valores de abundância na ordem dos 4 a 23% e, por sua vez, o *Cyathostomum* spp. tipo C foi o menos abundante (0 a 3%).

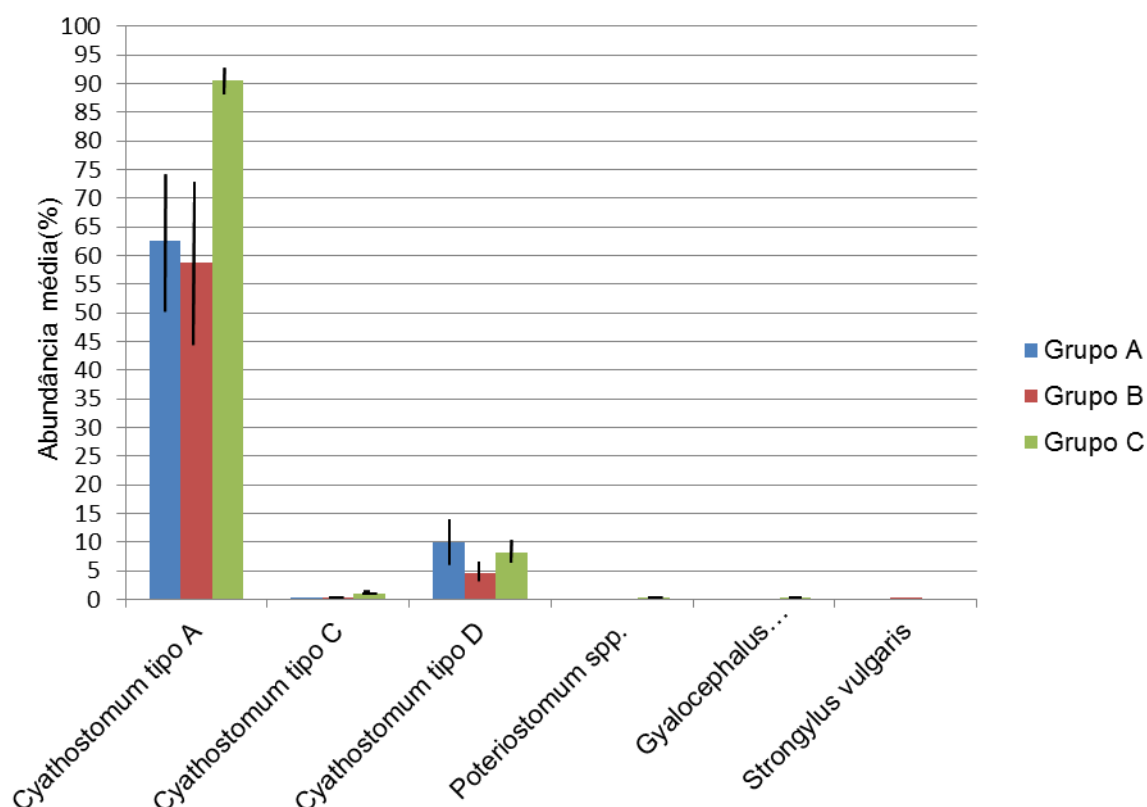
Gráfico 10- Abundância das espécies de parasitas identificadas no grupo C (controle)



4.3.4.1.1.2. Abundância média

Verificou-se que durante o estudo, os grupos A (desparasitação seletiva) e B (desparasitação estratégica) apresentaram abundâncias médias semelhantes para todos os parasitas identificados (Gráfico 11). Como já foi referido, *Cyathostomum* spp. tipo A apresentou maior abundância média durante o estudo, para todos os grupos, seguido de *Cyathostomum* spp. tipo D. Os restantes parasitas tiveram abundâncias médias muito reduzidas, restringindo-se quase exclusivamente ao grupo C (grupo de controlo), para o qual os valores de abundância média dos diferentes estrongilídeos se revelaram sempre superiores.

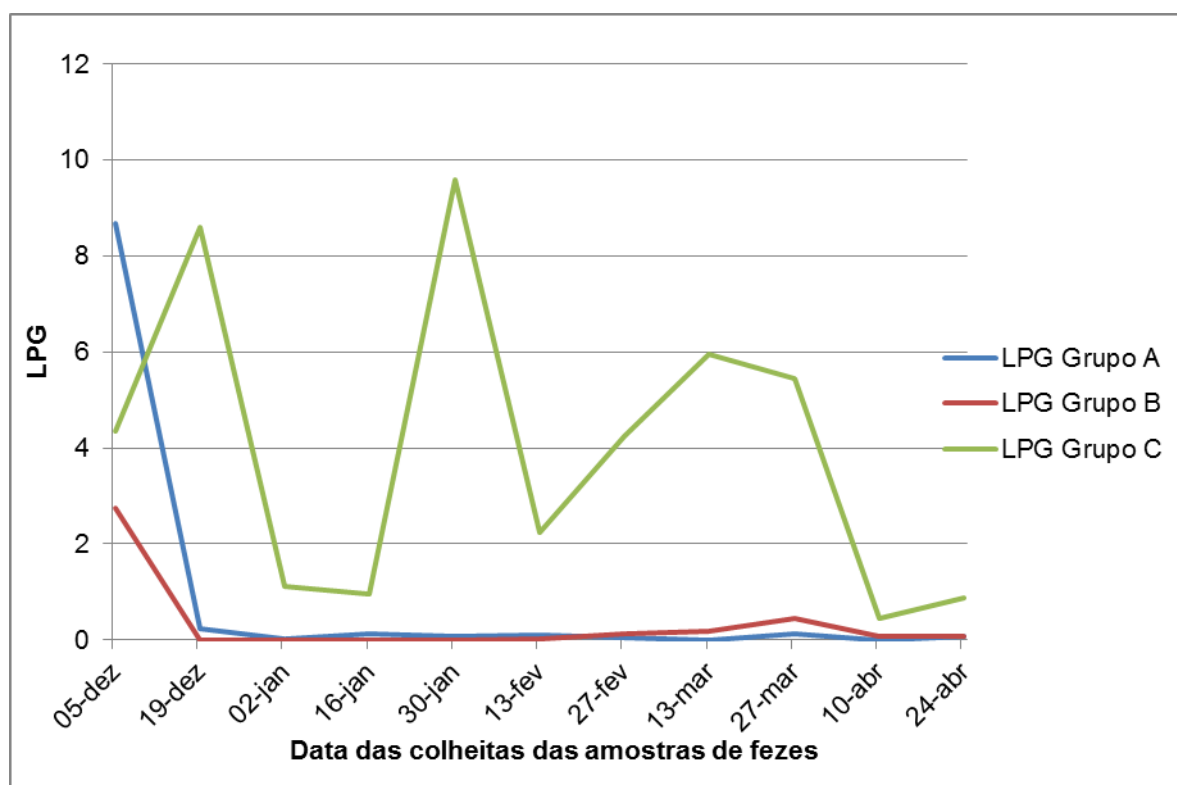
Gráfico 11- Representação da abundância média de cada gênero e espécie parasitário no decorrer do estudo, para cada grupo (As barras representam o erro padrão da média).



4.3.4.2. Larvas por Grama de Fezes

Verificou-se que os valores de larvas por grama de fezes eram reduzidos, sendo que para os grupos A e B estes valores caíram para zero após 5 de dezembro, aumentando ligeiramente a partir da colheita do dia 13 de março. Verifica-se pela análise do gráfico 12 que estes dois grupos apresentaram resultados semelhantes durante o estudo. Para o grupo C (controle) os valores de LPG foram muito superiores aos apresentados pelos grupos A e B, porém não se mantiveram constantes ao longo do tempo, variando de zero a 10 LPG.

Gráfico 12- Representação dos valores de LPG (Larva por grama de fezes) no decorrer do estudo



Observando a tabela 16, averigua-se que o valor médio de LPG, durante o estudo, para o grupo C se diferenciou dos valores correspondentes para os grupos A e B, sendo que o valor para o grupo A foi ligeiramente superior ao do grupo B.

Por outro lado, utilizando o teste de Kruskal-Wallis, verificou-se que o grupo não influencia o valor de LPG ($p\text{-value} = 0.1694$), ou seja, não existem diferenças significativas entre os três grupos para a variável LPG, pois os valores de LPG não são muito díspares entre os grupos.

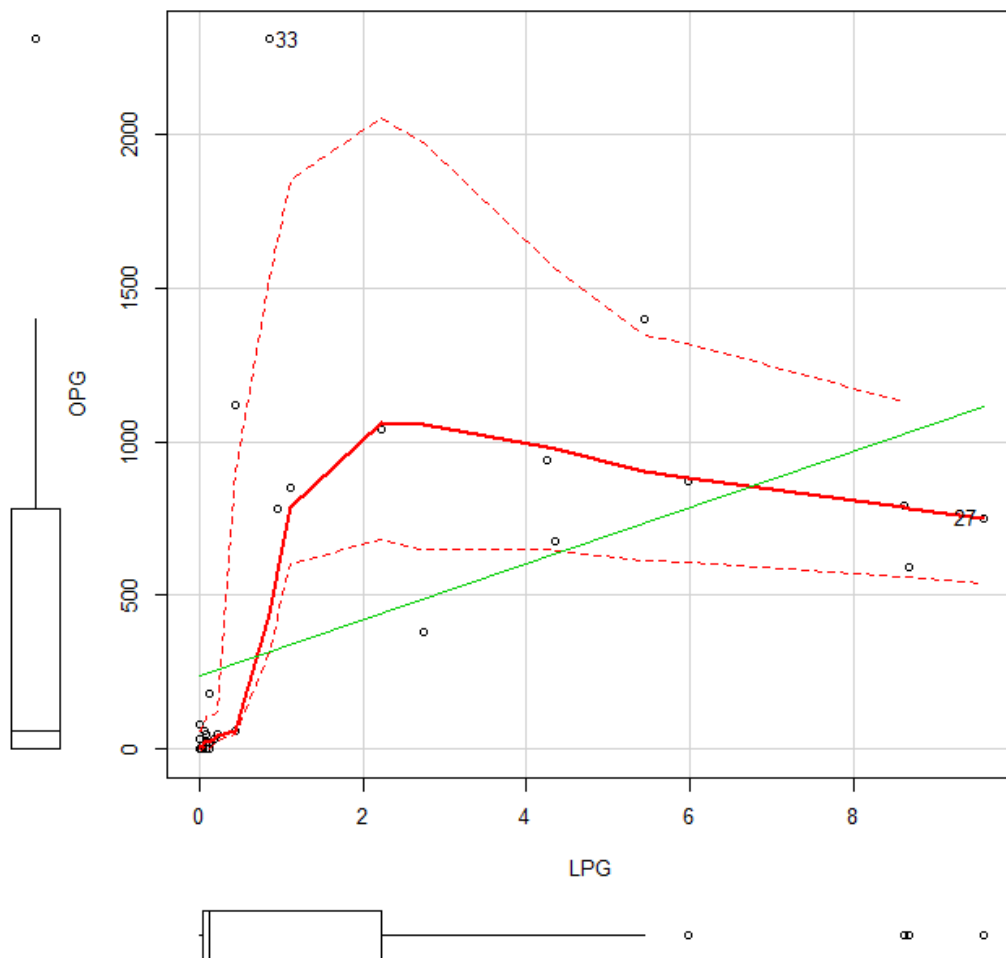
Tabela 16- Média dos valores de LPG durante o estudo, para cada grupo da amostra

Grupo	Média de LPG
Grupo A	0,86
Grupo B	0,33
Grupo C	3,98

4.3.4.2.1. LPG e OPG

Determinou-se que há correlação positiva forte entre o valor de OPG e o LPG ($\rho=0.7815448$). Ou seja, um valor de OPG alto é acompanhado de um valor de LPG também elevado, pelo contrário um valor de OPG baixo reflecte-se num valor de LPG igualmente baixo (Gráfico 13).

Gráfico 13— Representação da relação do valor de OPG com o LPG nas amostras de grupo. É notória uma correlação positiva entre as duas variáveis



Por outro lado, a observação dos gráficos 14 a 16, permite verificar que a correlação do OPG com o LPG é negativa para o grupo C, só sendo positiva nos restantes grupos (Gráficos 14 e 15).

Gráfico 14- Representação da relação do valor de OPG com o LPG nas amostras do grupo A (desparasitação seletiva)

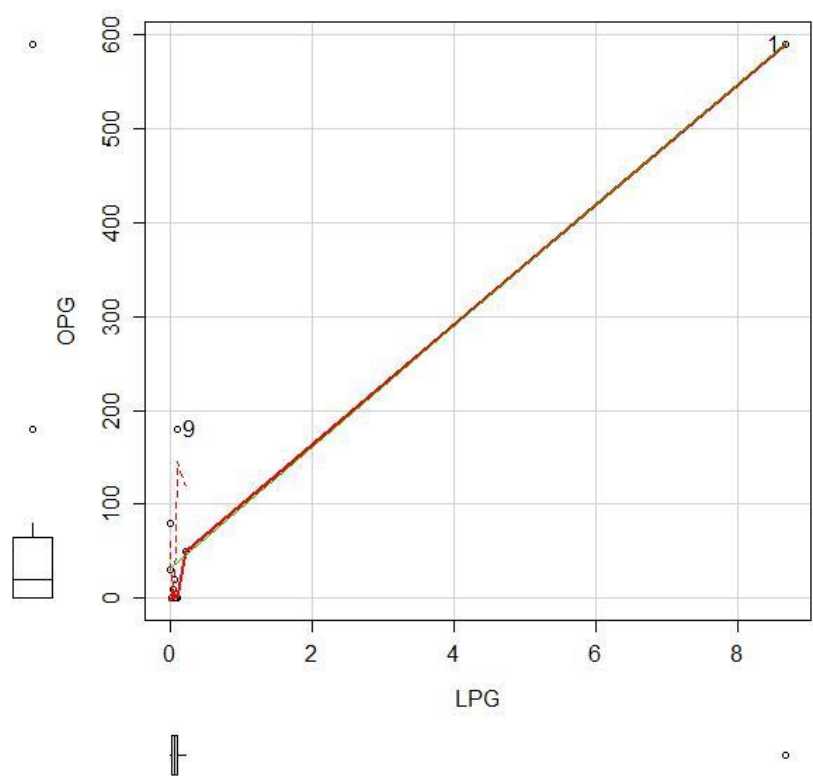


Gráfico 15- Representação da relação do valor de OPG com o LPG nas amostras do grupo B (desparasitação estratégica).

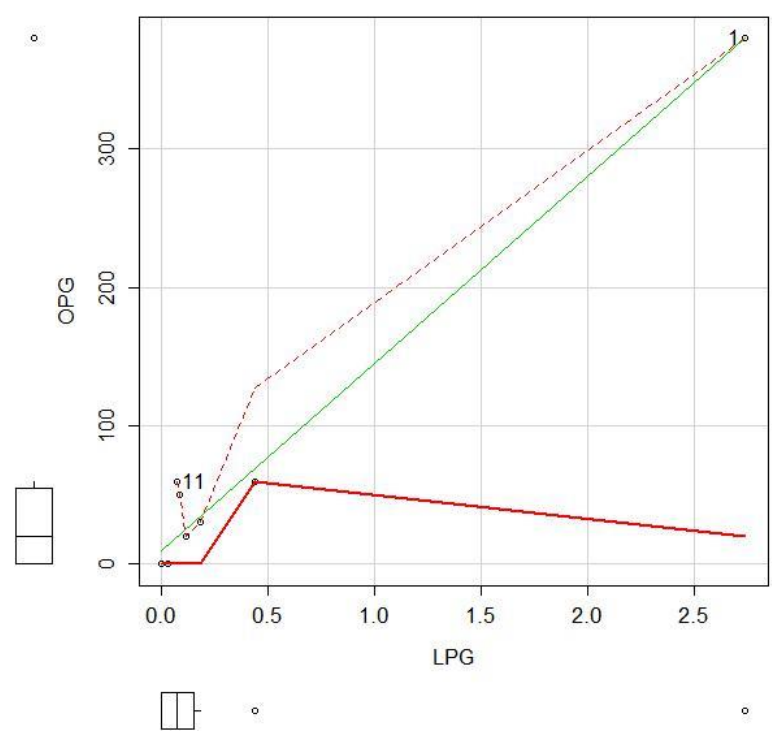
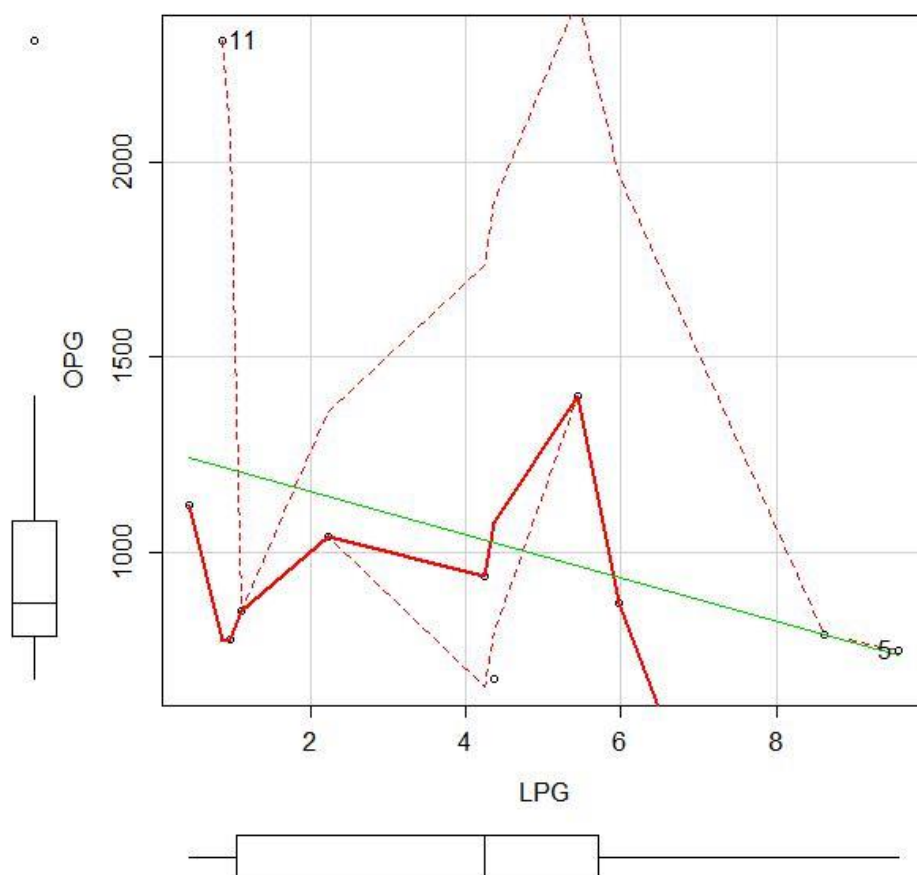


Gráfico 16- Representação da relação do valor de OPG com o LPG nas amostras do grupo C (controle).



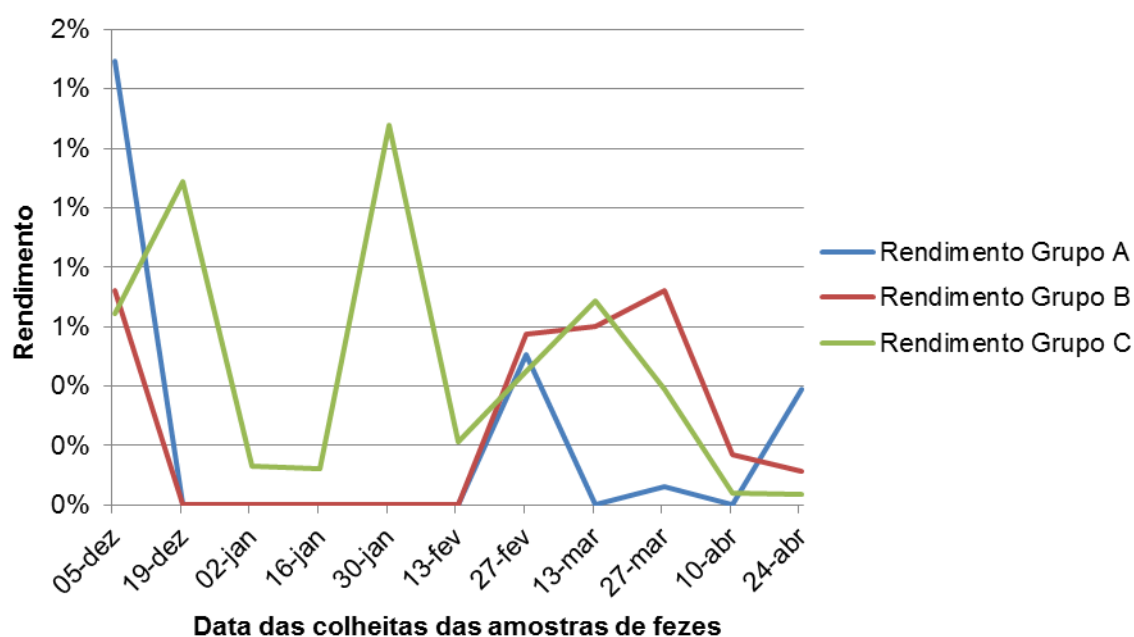
4.3.4.3. Rendimento larvar

O rendimento larvar (RL) apresentou-se baixo no geral, com valores entre 0 e 1,5%, nos 3 grupos que constituíram a amostra (Gráfico 17).

Na coprocultura de 5 de dezembro, o grupo A (desparasitação seletiva) teve um rendimento larvar de 1,5% e o grupo B (desparasitação estratégica) de 0,7%. No período de 19 de dezembro de 2014 a 13 de fevereiro de 2015, inclusivé, nestes dois grupos o rendimento larvar foi nulo (0%). A partir dessa data, o grupo B apresentou rendimento larvar superior ao grupo A com exceção da última colheita, sendo os valores de RL: 0,6%, 0,6%, 0,7%, 0,2% e 0,1%. Relativamente ao grupo A, o RL assumiu os seguintes valores a partir de 13 de fevereiro: 0,5%, 0%, 0,1%, 0% e 0,4%.

Quanto ao grupo C, o rendimento larvar oscilou entre 0 e 1%, aproximadamente.

Gráfico 17- Representação dos valores de Rendimento larvar durante o estudo para cada grupo



O teste de Kruskal-Wallis permitiu concluir que o grupo não influencia o valor do rendimento larvar ($p = 0.06127$), ou seja não há diferenças significativas entre os três grupos da amostra relativamente ao rendimento larvar.

4.3.5. Avaliação do custo/benefício

A aplicação dos protocolos de desparasitação seletiva ou estratégica resulta em diferentes custos. Para este cálculo considerou-se que a aplicação do programa de desparasitação estratégica decorria de forma cega, sem conhecimento de informação acerca do parasitismo no efectivo, tal como era hábito no local. Neste estudo, verificou-se que a aplicação do programa de desparasitação seletiva se traduziu numa maior despesa com a desparasitação (mais 48,01€), como se pode constatar através da observação da tabela 17.

Tabela 17- Custos decorrentes da desparasitação para o grupo A (desparasitação seletiva) e para o grupo B (desparasitação estratégica)

Custos	Grupo A	Grupo B
Nº de desparasitações	4	5
Despesa com desparasitante (€)	51,96	64,95
Despesa com a análise coprológica (€) (realizada no LPDP*)	61	0
Despesa total (€)	112,96	64,95

*Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias (LPDP), da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa

Avaliou-se também qual seria a diferença da despesa decorrente da desparasitação se aplicado o protocolo de desparasitação seletiva a toda a amostra, ou seja, aos 15 animais dos 3 grupos, em comparação com o esquema de desparasitação estratégica utilizado no local do estudo. Verificou-se que a aplicação do programa de desparasitação seletiva resultaria numa despesa de mais 131,04€ (Tabela 18).

Tabela 18- Custos decorrentes da aplicação de desparasitação seletiva ou estratégica a todos os animais da amostra, utilizando como cut-off para a desparasitação o valor de 200 OPG

Cálculo	Desparasitação seletiva	Desparasitação estratégica
Nº de desparasitações	11	15
Despesa com desparasitante (€)	142,89	194,85
Despesa com a análise coprológica (€) (realizada no LPDP)	183	0
Despesa total (€)	325,89	194,85

*Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias (LPDP), da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa

4.4. DISCUSSÃO

Este estudo realizou-se em cavalos adultos e pretendeu comparar, através das contagens de ovos por grama de fezes (OPG), grupos distintos nos quais foram implementados diferentes programas de desparasitação, a saber: desparasitação seletiva e desparasitação estratégica, confrontados com um terceiro grupo, no qual os equinos não foram desparasitados.

Relativamente à variável ovos por grama de fezes (OPG) não se encontraram diferenças entre os grupos em que foram implementadas a desparasitação seletiva (grupo A) e a desparasitação estratégica (grupo B). Os valores da média e mediana de OPG mantiveram-se constantes após a desparasitação, com valores inferiores a 200 OPG, nos dois grupos. Ambos se diferenciaram do grupo de controlo (grupo C), no qual não ocorreu qualquer desparasitação e apresentou como valores mínimo e máximo de OPG médio de 500 e 2400. Num estudo realizado por Nielsen, Vidyashankar, Olsen, Monrad e Thamsborg (2012), na Dinamarca, em que se aplicou a desparasitação seletiva, verificou-se que a média e a mediana de OPG, no total dos animais analisados, eram de 744.6 e 420, respetivamente. No entanto, naqueles equinos em que era praticada a desparasitação seletiva, 39,5% apresentavam OPG inferior a 200 e em 21,8% o OPG situava-se entre 200 e 600. No estudo de Gersão (2010), que incidiu no mesmo local em que decorreu este trabalho, os animais não desparasitados por um período de aproximadamente um ano, mantidos em estabulação, mantiveram níveis de OPG baixos e aqueles que foram desparasitados seletivamente apresentaram contagens máximas de grupo de 400 OPG.

Em outro estudo em que também foi implementado o método de desparasitação seletiva, utilizando como cut-off o valor de 200 OPG, Nielsen, Haaning e Olsen (2006) verificaram que todos animais mantêm o seu nível de infeção apesar de serem desparasitados. Nielsen (2012) veio a referir mais tarde que, mesmo na ausência de desparasitação, os animais mantêm os seus níveis de OPG.

Ou seja, a desparasitação seletiva, à semelhança da desparasitação estratégica, permite manter níveis de OPG relativamente baixos e diminuir a eliminação de ovos de parasitas, permitindo ainda que cerca de 50% dos animais não sejam desparasitados (Nielsen, et al., 2012; Nielsen, Pfister & von Samson-Himmelstjerna, 2014). É importante referir que estes dois pontos, a diminuição da eliminação de ovos e da consequente contaminação ambiental, são o objectivo principal da desparasitação (Nielsen, 2012).

Sabe-se que os animais têm diferentes susceptibilidades às infecções parasitárias, as quais são ditadas pela genética, apresentando assim níveis de infeção díspares que resultam numa distribuição não normal dos parasitas na população (Reinemeyer, 2009). Madeira de Carvalho (2001) classificou o nível de infeção parasitária segundo o OPG, em que de 0 a

500 OPG, exclusive, a infecção é considerada leve, de 500 a 1000 OPG a infecção é moderada e quando o OPG é superior a 1000 estamos perante uma infecção forte.

No início deste estudo apenas alguns animais, do total de equinos que constituíram a amostra, apresentavam infecção forte (27%), sendo que a maioria (67%) dos animais tinha um nível de infecção leve e os restantes infecção moderada (6%). Estes resultados obtidos vão ao encontro do que foi descrito por Reinemeyer (2009), Kaplan e Nielsen (2010), Nielsen (2012) e Matthews (2014) que referem que os parasitas presentes numa população de equinos, estão na sua grande maioria (80%) presentes num número reduzido de animais da população (20%). Estes animais são grandes eliminadores de ovos nas fezes, sendo por isso os principais responsáveis pela contaminação ambiental e, por conseguinte, por futuras infecções parasitológicas. Deste modo, devem ser o principal foco do controlo parasitológico. Segundo os mesmos autores e Nielsen (2015), 50% da população tende a apresentar um nível de OPG baixo (< 200), mesmo na ausência de desparasitação, devido a maior imunidade. Assim contaminam pouco o ambiente, o que faz com que não necessitem de ser desparasitados, até porque não representa uma mais valia fazê-lo. Os restantes animais apresentam infecções moderadas.

Verificou-se neste trabalho que, nos animais que não foram desparasitados, o nível de infecção parasitária aumentou no decorrer do estudo. Por outro lado, nos grupos em que foram implementados os métodos de desparasitação seletiva e desparasitação estratégica, após a ocorrência da desparasitação, no final do estudo os equinos com OPG positivo apresentavam um nível de infecção leve. Assim se observa, novamente, a capacidade de ambas as metodologias de desparasitação em manter os valores de OPG baixos.

Verifica-se a importância da contagem de ovos fecais que permite não só classificar o nível de infecção parasitária presente nos equinos, como também, inferir se o animal está ou não acima do cut-off estabelecido de modo a decidir acerca da desparasitação, fazendo assim parte integrante e fulcral na implementação de um método de desparasitação seletiva (Matthews & Lester, 2015). É também notória a relevância da utilização do método de McMaster que, sendo uma técnica rápida e de fácil aplicação, estima o número de parasitas no hospedeiro, possibilitando a obtenção do valor de OPG (Matthews, 2014; Matthews & Lester, 2015).

Relativamente ao clima, encontrou-se correlação entre o valor de OPG e este, designadamente positiva com os valores de temperatura e negativa com a humidade relativa e precipitação registadas. Esta correlação foi fraca quanto às condições meteorológicas na semana da colheita de fezes e fraca/moderada quanto ao mês anterior, contudo revelou-se forte no que diz respeito aos valores que vigoravam 11 meses antes da colheita, em especial relativamente à temperatura. Isto traduz, a influência do clima na fase exógena do ciclo de vida destes parasitas. Sabe-se que as condições meteorológicas têm influência na

sobrevivência dos ovos parasitários e larvas e no desenvolvimento consecutivo dos ovos e diferentes estádios larvares até atingirem o estágio L3 (larvas infectantes) nomeadamente: a temperatura adequada dita o desenvolvimento da mórula em L1 e desta nos consecutivos estádios larvares; também está descrito que a humidade e a pluviosidade possibilitam a sobrevivência e migração larvar (Madeira de Carvalho, 2001; Reinemeyer, 2009; Reis, 2011; Reinemeyer & Nielsen, 2013; Sellon & Long, 2013) contudo neste estudo esta correlação positiva não foi verificada.

Reis (2011) verificou que existia correlação positiva moderada do OPG com a temperatura na semana da colheita de fezes e fraca com a temperatura que se fez sentir um mês antes. Por outro lado, o autor verificou que os valores de humidade relativa, na semana da colheita de fezes e no mês anterior, apresentavam correlação negativa fraca com os valores de OPG. Os valores de precipitação na semana da colheita e um mês antes correlacionaram-se negativamente e de forma fraca com os valores de OPG. Ou seja, no geral os nossos resultados vão ao encontro dos assinalados neste estudo.

A larvas que provocaram as infeções parasitárias que nos foi possível detectar nos equinos, estariam presentes no ambiente há 11 meses e teriam sido mais favorecidas pela temperatura do que pelos outros parâmetros, dado que os principais parasitas identificados, das subfamílias Strongylinae e a Cyathostominae, apresentam como período pré-patente máximo onze meses (Reinemeyer, 2009; Reis, 2011; Bell, et al., 2015).

Através das técnicas qualitativas de Willis e de Sedimentação foram encontrados ovos parasitários de *Strongylidae* gastrointestinais e de *Parascaris* spp.

Verificou-se que os valores obtidos para a média e para a mediana do número de animais positivos a ovos de EGI foram superiores para o grupo C (controlo), o que é de esperar dado que neste grupo os animais não foram desparasitados. O fato de os valores da média terem sido superiores para o grupo A (desparasitação seletiva) comparativamente ao grupo B (desparasitação estratégica) é justificado por no primeiro grupo existirem animais que não foram desparasitados. Por outro lado, só foram identificados ovos de *Parascaris* spp. Num equino do grupo B (desparasitação estratégica) e noutro do grupo C (controlo), nas amostras de fezes que foram colhidas no dia 24 de abril, último dia em que se colheu amostras. Assim, compreende-se que os resultados para a mediana do número de animais positivos a ovos deste parasita sejam negativos e que a média apenas seja positiva para os grupos B e C.

O fato de terem sido encontrados ovos de *Parascaris* spp. em dois animais apenas no momento referido é justificado com o ciclo de vida deste parasita, que apresenta um período pré-patente de cerca de 4 meses (Koudela & Bodecek, 2006).

No entanto, no animal que pertencia ao grupo B (desparasitação estratégica) e que portanto foi desparasitado, assumindo que o equino já estaria infectado quando este estudo se

iniciou, existiu provavelmente uma ineficácia da administração de ivermectina na remoção das formas larvares de *Parascaris* spp. em migração (Lindgren, et al., 2008) pelos tecidos extra-intestinais do hospedeiro (como o fígado e os pulmões) (Bowman, 2014). Lindgren, et al. (2008) defenderam que a ivermectina tem reduzida eficácia nas formas larvares deste parasita, que estão em migração extra-intestinal, e diversos autores referem que existe resistência do *Parascaris* spp. à administração de ivermectina (Hearn & Peregrine, 2003; Näreaho, Vainio & Oksanen, 2011; Tydén, et al., 2013; Peregrine, Molento, Kaplan, & Nielsen, 2014; Janssen, Krücken, Demeler & Samson-Himmelstjerna, 2015). Outra possível explicação para o aparecimento de ovos de *Parascaris* spp. neste equino, no final do estudo, é a possibilidade de o animal se ter infetado após a desparasitação, através da ingestão de ovos presentes no ambiente (Lindgren, et al., 2008) quer na pastagem, cujo acesso foi passível de acontecer numa das suas incursões pelo exterior, quer na boxe. A última situação referida justifica-se com a enorme capacidade de sobrevivência dos ovos deste parasita a qual lhes é imputada pela sua característica casca grossa (Bowman, 2014). Não deixa de ser interessante o fato de a infeção por *Parascaris* spp. estar presente em equinos em idade adulta, com 7 e 14 anos, uma vez que, é uma condição típica de animais jovens (Koudela & Bodecek, 2006). Nestes animais está descrito um desenvolvimento da imunidade protectora contra o parasita que conduz a que a infeção seja incomum em animais mais velhos (Reinemeyer, 2009b; Jabbar et al., 2014) e menos intensa quando ocorre neste grupo etário (Laugier, et al., 2012). Para além disso, segundo Lindgren, et al. (2008) os cavalos mais velhos não eliminam ovos de *Parascaris equorum*. Tal fato não se verificou neste estudo, apresentando um dos animais infectados grande quantidade de ovos no método de McMaster, que correspondiam a este parasita (3000 OPG).

Por outro lado, a existência de infeção por este parasita na idade adulta pode ser justificada com a ocorrência de imunodepressão ou imunodeficiência nesses animais (Jabbar, et al., 2014), fato de que não há conhecimento.

Gersão (2010) identificou ovos de *Parascaris equorum* em 5 animais adultos nos dois estudos realizados, em variados meses do ano. Assim, este estudo informa da continuidade da presença de *Parascaris* spp. neste local, pese o fato de os animais serem desparasitados regularmente.

Neste estudo o valor do teste de redução de contagem de ovos fecais de estrongilídeos, obtido em todos os animais em que a desparasitação se efectuou foi de 100%, pelo que se confirma que o fármaco a que se recorreu é eficaz, qualquer que seja o método de desparasitação utilizado neste estudo.

Quanto ao período de reaparecimento de ovos (PRO) - período que decorre entre a desparasitação e o reaparecimento de ovos nas fezes - este não mostrou diferenças significativas entre os grupos de desparasitação seletiva e desparasitação estratégica, tendo

sido superior ao estabelecido para o fármaco utilizado, a ivermectina, o qual ronda as 8 semanas (Reinmeyer & Nielsen, 2013).

Neste estudo um animal do grupo em que foi praticada a desparasitação seletiva (grupo A) e dois do grupo em que se procedeu a desparasitação estratégica (grupo B) não voltaram a apresentar ovos nas fezes após o tratamento antiparasitário no decorrer de todo o estudo, tendo sido desparasitados em 19 de dezembro e 5 de dezembro respetivamente.

Estes resultados vão ao encontro do assinalado por Gersão (2010) no seu estudo conduzido no mesmo local e no qual foi aplicada a desparasitação seletiva. Esta autora verificou que a ivermectina era 100% eficaz na redução das contagens de ovos fecais de estrongílídeos (e também de *Parascaris spp.*, informação de que não dispomos neste estudo); o período de reaparecimento de ovos identificado também foi superior (57 a 88 dias) ao estabelecido para o fármaco.

Num estudo no qual foi aplicada a desparasitação seletiva, verificou-se que o valor do TRCOF foi superior a 96,9% para *Parascaris spp.* e estrongílídeos sem diminuição do PRO (Larsen, Ritz, Petersen & Nielsen, 2010). Kyvsgaard, et al. (2011) na Nicarágua, verificaram que existia eficácia da ivermectina (100%) e uma duração do período de reaparecimento de ovos de 60 dias. No Brasil, Cutolo, et al. (2011), e na Escócia, Stratford, Lester, Pickles, McGorum e Matthews (2014), verificaram que a administração de ivermectina era eficaz, com o TRCOF > 99.5% na Escócia.

Na Alemanha, von Samson-Himmelstjerna et. al. (2007) obtiveram como valor de TRCOF 100% no estudo que efectuaram em 2003 e 2004, no entanto em 2005 depararam-se com uma redução do período de reaparecimento de ovos para diversos intervalos mas sempre menor que 8 semanas. Madeira de Carvalho (2001) também verificou que existia eficácia da ivermectina (TRCOF > 95,9%) no seu trabalho realizado em equinos em estabulação ou semi-estabulação numa exploração coudélica no Ribatejo, e o período de reaparecimento de ovos foi de 58 e 61 dias para a ivermectina. Houve contudo situações em que a ivermectina não se demonstrou eficaz, com um valor de TRCOF inferior a 90%, mas nalgumas destas situações devido a administração por injeção via subcutânea, logo em modo *off label*.

Numa outra investigação, realizada em Itália, na Bélgica e na Alemanha por Geurden, et. al. (2014), que avaliou a eliminação de ovos nas fezes após a desparasitação com ivermectina, verificou-se uma eficácia superior a 96%, com excepção de um local na Alemanha com 92% de eficácia. No entanto, verificaram uma diminuição do PRO nos três países, em mais de metade dos locais de estudo. Os autores atribuíram a diminuição do PRO ao fato de se praticar uma desparasitação muito frequente e contínua com aqueles produtos farmacêuticos. Num estudo realizado nos Estados Unidos da América, Lyons, Tolliver, Ionita, Lewellen e Collins (2008a) observaram que o período de reaparecimento de ovos após a administração de ivermectina, também foi inferior ao estabelecido, 4 semanas.

Sabe-se que a diminuição do PRO pode dever-se à falta de eficácia sobre as larvas presentes na mucosa intestinal (Kyvsgaard, et al. 2011; Stratford, et al., 2011), as quais após o tratamento evoluem rapidamente, resultando num ciclo de vida mais rápido.

Verifica-se assim, através da análise do TRCOF e do PRO, que o fato de se adoptar o método de desparasitação seletiva não apresenta qualquer prejuízo quanto à eficácia do tratamento parasitário e à duração do período de reaparecimento de ovos, em comparação com o método de desparasitação estratégica.

No grupo em que foi praticada a desparasitação seletiva (grupo A), verificou-se que o animal que apresentava maior valor de OPG foi aquele que necessitou de outro tratamento parasitário, dado que ultrapassou novamente o *cut-off* estabelecido. Nos estudos de Gomez e Georgi (1991) e Becher, et al. (2010), estes autores já haviam concluído que os animais que necessitavam de uma segunda desparasitação eram aqueles que apresentavam o valor de OPG pré-tratamento mais elevado. Isto vai ao encontro ao verificado neste trabalho sobre a relação do OPG com o PRO, de que um valor de OPG superior está associado a um retorno mais rápido dos animais à positividade ao método de McMaster, ou seja, de um PRO mais curto

No entanto e apesar das potencialidades já referidas do método de McMaster, deve-se ter presente ao analisar os resultados obtidos, que esta técnica tem um limiar de deteção de 50 ovos (Melo-Franco, et al., 2015). Assim, possui uma menor sensibilidade e, portanto, gera um maior número de falsos negativos comparativamente a outros métodos que possuam como limiar de deteção valores inferiores (Matthews, 2014; Matthews & Lester, 2015). Estes fatos assumem “maior relevância quando se pretende determinar a eficácia de um desparasitante dado que os valores de OPG pós desparasitação são muito inferiores” (Matthews, 2014). Segundo, Matthews & Lester (2015) pode-se aumentar o número de análises realizadas para cada amostra como forma de ultrapassar este obstáculo, com a contrapartida de ser muito mais trabalhoso. Por outro lado, durante o PPP o OPG será necessariamente zero.

No grupo em que foi praticada a desparasitação seletiva (grupo A) o valor da média de OPG, no início do estudo, foi muito superior comparativamente aos restantes grupos. Esta diferença significativa deve-se ao fato de pertencer a este grupo um equino grande eliminador, com um nível de infeção forte. Esta disparidade de valores apesar de ter originado um desequilíbrio inicial entre os grupos ao nível do OPG, permitiu uma melhor testagem da desparasitação seletiva.

Relativamente aos parasitas encontrados através da coprocultura identificaram-se *Cyathostomum s.l.*, *Strongylus vulgaris*, *Gyalocephalus capitatus* e *Poteriostomum* spp.

O parasita mais abundante em todos os grupos foi o *Cyathostomum*, s.l. e dentro deste género, o tipo A apresentou maior abundância seguido pelos tipos D e C, como também foi constatado nos estudos realizados por Madeira de Carvalho (2001), Gersão (2010) e Melo-Franco (2014).

A maior abundância de *Cyathostomum*, s.l. vai ao encontro da informação de que *Cyathostomum* spp. é hoje em dia o grupo de parasitas mais importantes e que representa 80-100% do total da população larvar em cultura fecal (Nielsen, 2012; Matthews, 2014).

Verificou-se um claro predomínio de *Cyathostomum* spp. em relação ao género *Strongylus* spp., situação também descrita por Madeira de Carvalho (2001), Reis (2011), Gersão (2011) e Melo-Franco (2014). A baixa abundância de L3 de *Strongylus vulgaris*, resulta da diminuição da população deste nematode como resultado de anos de intensos tratamentos parasitários dirigidos especificamente a este parasita (Teixeira, et al., 2014). No entanto, é importante referir que o número de larvas de *S. vulgaris* presentes em amostras fecais é normalmente reduzido e pode ser imperceptível por entre milhares de *Cyathostomum* spp. (Nielsen, Olsen, Lyons, Monrad & Thamsborg, 2012a)

Por outro lado, a maior abundância de *Cyathostomum* spp. tipo A prende-se com o fato de neste tipo estarem incluídas as espécies mais prevalentes de vários géneros cujas L3 apresentam este morfotipo, nomeadamente *Cyathostomum catinatum*, *Cylicocyclus nassatus*, *Cylicocyclus insigne* e *Cylicostephanus longibursatus*, muitas delas resistentes (Madeira de Carvalho, 2008b; Corning, S., 2009).

Gersão (2010) verificou uma diminuição da diversidade de formas larvares de 2004 para 2008, o que atribuiu à desparasitação. Esta autora não identificou o parasita *Gyalocephalus capitatus*, nem *S. vulgaris*, o que ocorreu no nosso trabalho. As abundâncias encontradas por esta autora em 2004 foram de 95,37% para o *Cyathostomum* spp. tipo A, 1,88% para o *Cyathostomum* spp. tipo C e 3,56% para *Cyathostomum* spp. tipo D. Em 2008, *Cyathostomum* spp. tipo A teve uma abundância de 95,25%, o *Cyathostomum* spp. tipo C de 1%, e *Poteriostomum* spp. de 3,75%. Os estrongilídeos do género *Strongylus* spp. só foram identificados em amostras de fezes de equinos em pastagem e apresentaram abundâncias relativas baixas (2% para *S. equinus* e 3% para *S. edentatus*). De alguma forma, os nossos resultados aproximam-se dos de Gersão (2010), atendendo a que *S. vulgaris*, *G. capitatus* e *Poteriostomum* spp. tiveram uma presença quase vestigial, sendo esta justificada pela realização de um único tratamento estratégico anual no local.

Kyvsgaard, et. al, (2011) também avaliaram as prevalências: *Cyathostomum* spp. foi o grupo de parasitas presente em maior número, sendo *Strongylus vulgaris* e *Poteriostomum* spp. menos prevalentes. No estudo de Madeira de Carvalho (2001), *Gyalocephalus capitatus* foi um dos parasitas com abundância mais reduzida.

Verificou-se ainda, através dos resultados obtidos por cultura de fezes que, as abundâncias médias parasitárias foram semelhantes para os grupos em que se praticaram a desparasitação seletiva e estratégica, como é visível no gráfico (Gráfico 11) já apresentado no capítulo dos resultados.

Relativamente às populações larvares nos diferentes grupos, verificou-se como seria de esperar, que o grupo controlo que não sofreu desparasitação apresentou maior diversidade de parasitas, sendo identificados *Cyathostomum s.l.*, *Gyalocephalus capitatus* e *Poteriostomum* spp. Para além disso, constatou-se que o método de desparasitação seletiva resultava na existência de igual diversidade de géneros e espécies de parasitas comparativamente à técnica de desparasitação estratégica. Em ambos os grupos apenas foi identificado *Cyathostomum s.l.*. A identificação de *S. vulgaris* que se verificou no grupo B (desparasitação estratégica) ocorreu antes da desparasitação. Verificou-se porém que as larvas de *Cyathostomum* spp. tipos D e C eram mais abundantes no grupo em que se praticou a desparasitação seletiva, o que de alguma forma é expectável pois nos equinos cujas populações de parasitas são submetidas a menor pressão anti-helmíntica, é natural que apareçam mais tipos larvares de *Cyathostomum s.l.*, sendo uma medida da sua biodiversidade (Madeira de Carvalho, 2001).

Após a desparasitação, no grupo em que foi implementado o método de desparasitação estratégica (grupo B) não se identificaram quaisquer larvas por um período de 10 semanas. Por outro lado, no grupo A (desparasitação seletiva) a identificação de larvas foi sempre possível no decorrer do estudo. Estes fatos coincidiram com valores de OPG negativos para ambos os grupos o que nos faz pensar que o método de cultura larvar é mais sensível que o método de McMaster na deteção de infeção parasitária, tal fato explica-se pela utilização de uma maior quantidade de fezes para a realização da técnica de coprocultura.

É importante referir que a realização de coproculturas por amostragem, como efectuado no presente trabalho, pode ter um impacto negativo na diversidade de forma larvas identificadas, gerando mais falsos negativos, uma vez que tipos larvares pouco abundantes deixam de ser detectados numa contagem de 100 larvas por amostra (Nielsen, et al., 2014).

Relativamente ao valor de larvas por grama de fezes (LPG), apesar de o teste estatístico nos indicar que não existem diferenças entre os grupos da amostra, a análise do gráfico 12 e da tabela 16, que apresentam os valores médios de LPG para cada grupo durante o estudo, permitiu-nos aferir que os valores de LPG foram muito superiores para o grupo C (controlo), e semelhantes entre os grupos A (desparasitação seletiva) e B (desparasitação estratégica). Estes resultados justificam-se pela ausência de desparasitação no grupo C e

revelam que não há diferenças ao nível deste parâmetro para as duas metodologias de desparasitação aplicadas.

Verificou-se, através da observação do gráfico 13 e da aplicação do teste de Kruskal-Wallis, que há correlação do LPG com o valor de OPG, o que é de esperar visto que são os ovos presentes nas fezes dos equinos que se irão desenvolver nas larvas que conseguimos identificar através das coproculturas. No entanto, por vezes valores de OPG baixos sucedem-se de valores de LPG muito altos. Por outro lado, avaliando para cada grupo a correlação entre OPG e LPG (gráficos 14, 15 e 16) esta só demonstrou ser positiva para os grupos A (desparasitação seletiva) e B (desparasitação estratégica), sendo negativa no grupo C (controlo).

O rendimento larvar apresentou-se muito baixo, com valores de 0 a 2% para todos os grupos, isto deve-se ao fato de apenas parte do elevado número de ovos de parasitas conseguir sobreviver e desenvolver-se até L3. Reis (2011) obteve para o rendimento larvar valores superiores aos que aqui se descrevem, compreendidos entre 0 e 100%, com maior incidência entre 2 e 10%.

Tanto o rendimento larvar como o valor de LPG revelaram-se semelhantes para os grupos onde foi praticada a desparasitação seletiva e a desparasitação estratégica.

Apesar de se ter aferido que nas condições em que este estudo foi implementado, o método de desparasitação seletiva se torna mais caro devido à necessidade de se proceder obrigatoriamente a análises coprológicas a todos os animais para verificar qual o valor de OPG apresentado, é de salientar que o esquema de desparasitação estratégica não está isento da necessidade de análises coprológicas. De forma regular e pelo menos duas vezes por ano, na primavera e no outono (pois constituem as épocas de maior risco de infecção por estrongilídeos, dado que as condições meteorológicas possibilitam o desenvolvimento do ciclo biológico parasitário) e independentemente do esquema de desparasitação utilizado, estas análises devem ser realizadas de modo a determinar quais os parasitas presentes na população, com o objectivo final de perceber se o fármaco antihelmíntico utilizado continua a ser o mais adequado ao parasitismo actual (Nielsen, et al., 2014). Por outro lado, existe também a necessidade de realizar TRCOF's para atestar se o antihelmíntico utilizado ainda é eficaz (Reinemeyer, 2009). Assim, e visto que as despesas com as análises coprológicas são afinal exactamente as mesmas, a despesa total decorrente da desparasitação seletiva é menor, porque resulta num menor número de desparasitações e portanto provoca menos gastos com desparasitantes. Lester, et al. (2013) desenvolveram um estudo em que compararam os custos dos métodos de desparasitação seletiva e desparasitação estratégica, efetuada a intervalos regulares, concluindo que a implementação da primeira resultava em menores custos, fato com que Lyons (2014), Nielsen, et al. (2014) e Matthews e Lester (2015) também concordam.

Por outro lado, se a análise coprológica realizada no local onde decorreu este estudo, pelos Médicos Veterinários que aí exercem funções, os custos seriam muito inferiores, limitando-se às despesas com os materiais consumíveis, nomeadamente os copos de plástico e o açúcar.

Por outro lado, e como já foi referido este menor número de desparasitações também resulta em menor esforço e tempo dispendidos no maneio necessário à desparasitação e em menor contaminação ambiental com os compostos que constituem os desparasitantes (Melo-Franco, 2014).

Outro ponto positivo, resultante do método de desparasitação proposto, para além da poupança, é o fato de permitir reduzir a pressão de selecção para o aparecimento de resistências aos fármacos antihelmínticos (Becher, et al., 2010) (Geurden, et. al. 2014). Isto resulta da redução do número de tratamentos desparasitantes efectuados (Lyons, Tolliver. Kuzmina, Dzeverin, Martin Nielsen, McDowell, 2014) que causa um aumento do refúgio (Matthews & Lester, 2015). O refúgio, que como já foi referido neste trabalho, é a proporção da população de parasitas que não é sujeita a acção dos desparasitantes, ao aumentar reduz o desenvolvimento de resistências, uma vez que, fornece novos genes susceptíveis aos fármacos antihelmínticos (Kaplan & Nielsen, 2010; Matthews & Lester, 2015).

O *cutt-off* utilizado neste estudo verificou-se ser viável nas condições em que foi implementado, no entanto, alguns autores como Madeira de Carvalho (2001) Nielsen (2012) e Matthews e Lester (2015), referem que deve situar-se entre 0 e 500 OPG. No trabalho realizado por Gersão (2011) foi utilizado como *cut-off* o valor de 500 OPG, não se tendo verificado qualquer impacto negativo na saúde dos animais em comparação com o método de desparasitação utilizado no local, a desparasitação estratégica. Assim, o aumento do cut-off pode ser equacionado, permitindo que um número ainda maior de animais não seja sujeito a desparasitações.

É relevante referir que neste esquema de desparasitação seletiva a vigilância nunca deixa de existir. Este fato tem especial importância no controlo da prevalência de *Strongylus vulgaris* dado que está associado a este esquema de desparasitação seletiva um ressurgimento deste parasita, uma vez que pode possibilitar a finalização do seu ciclo de vida (Madeira de Carvalho, 2007b; Nielsen, et al., 2012; Nielsen, et al., 2014). A corroborar essa associação estão os resultados de Nielsen, Vidyashankar, Olsen, Monrad e Thamsborg (2012) que verificaram uma maior ocorrência de *S. vulgaris* em locais em que este esquema de controlo parasitário era aplicado, principalmente quando consequentemente ao esquema utilizado, os animais não haviam sido desparasitados nos

últimos 6 meses. Isto permitia aos parasitas desta espécie completarem o seu ciclo biológico, considerando que esta é a duração do seu período pré-patente. Nielsen (2015), refere a possibilidade de se efectuarem “tratamentos antiparasitários com periodicidade anual ou bianual de modo a interromper o ciclo de vida deste parasita” como forma de controlo, mesmo que esteja implementado um esquema de desparasitação seletiva.

Há que ter em consideração que o esquema de desparasitação seletiva só deve ser implementado em animais adultos. A sua aplicação em poldros e animais jovens não é recomendada (Geurden, et al. 2014) devido aos riscos resultantes, uma vez que, qualquer que seja o OPG apresentado por estes animais, terão uma maior suscetibilidade a infecções parasitárias, nomeadamente por *Parascaris equorum*, devido ao fato de a sua imunidade não estar completamente estabelecida (Nielsen, et al., 2014; Reinemeyer & Nielsen, 2016). Nestes animais o controlo parasitológico deve ser realizado com base na sua faixa etária e num diagnóstico parasitológico positivo (Reinemeyer & Nielsen, 2016).

O fato de este estudo ter ocorrido durante o inverno e a primavera é relevante dado que, como já foi descrito neste trabalho, os estádios larvares de *Cyathostomum* spp. se encontram em hipobiose durante os meses de outono e inverno. No Reino Unido, em que a hipobiose ocorre no inverno, Matthews e Lester (2015) referem que a vigilância deve incidir no período entre a primavera e o outono, inclusivé, uma vez que, segundo as autoras, durante essa estação o OPG não dá informação acerca do nível de infeção. No entanto, em Portugal o clima não é tão rigoroso e apesar da existência de hipobiose, no outono-inverno, esta não implica que não existam equinos com níveis de OPG fortes. Assim, neste caso em concreto a vigilância deve estender-se a todo o ano ou em alternativa recorrer a tratamentos larvicidas preventivos no inverno com moxidectina (Matthews & Lester, 2015).

Considerando as espécies identificadas e as razões que poderão justificar o aparecimento de ovos de *Parascaris* spp., nomeadamente uma resistência deste parasita aos desparasitantes, deve ser revista a utilização do fármaco ivermectina para o seu controlo, ponderando a utilização de outro composto que possibilite um melhor controlo do mesmo. Os desparasitantes que podem ser utilizados no controlo do *Parascaris* spp. são os benzimidazóis, as tetrahidropirimidinas, como o pamoato de pirantel e a piperazina (Lyons, et al., 2011; Jabbar, et al., 2014). Para além disso, existe uma hipótese considerável de as contagens fecais serem negativas para *P. equorum* e Nielsen, et al. (2014) consideram difícil controlar este parasita com base numa terapia seletiva.

4.5. CONCLUSÃO

No efectivo equino em estudo, a implementação de um programa de controlo parasitológico seletivo é viável e uma mais-valia. A sua execução está apenas dependente da realização de contagens de ovos fecais em amostras de fezes dos equinos da população, as quais podem ser realizadas através do método de McMaster. Esta técnica é de execução simples e rápida, para além de barata.

A adopção de um método de desparasitação seletiva ou estratégica não resultou no presente trabalho em diferenças significativas ao nível do OPG de cada grupo, da eficácia do tratamento parasitário, nem do período de reaparecimento de ovos. No entanto, ao reduzir o número de desparasitações necessárias é mais económico e aumenta o número de formas parasitárias em refúgio, o que permite reduzir a pressão para a criação de resistências parasitárias. Os custos decorrentes do controlo parasitológico seriam ainda menores, caso a técnica de McMaster fosse efetuada no local pelos Médicos Veterinários do Exército.

Concluiu-se ainda que a ivermectina foi eficaz na redução da eliminação de ovos de strongilídeos. Por outro lado, é necessário estudar melhor a presença do parasita *Parascaris* spp. nesta população e a sua susceptibilidade a outros desparasitantes para além da ivermectina.

5. BIBLIOGRAFIA

- Abbott, J.B., Mellor, D.J. & Love, S. (2007). Assessment of serum protein electrophoresis for monitoring therapy of naturally acquired equine cyathostomin infections. *Veterinary Parasitology*, 147, 110–117
- Anderson, R. C. (2000). Order Strongylida, In *Nematodes parasites of vertebrates, their development and transmission*: (2nd edition). UK: CABI Publishing,
- Andersen, U. V., Howe, D. K., Dangoudoubiyam, S., Toft, N., Reinemeyer, C. R., Lyons, E. T., Olsen, S. N., Monrad, J., Nejsun, P. & Nielsen, M. K. (2013). SvSXP: a *Strongylus vulgaris* antigen with potential for prepatent diagnosis. *Parasites & Vectors*, 6:84
- Andersen, U.V., Howe, D.K., Olsen, S.N., Monrad, J., Nejsun, P., Lyons, E.T. & Nielsen, M.K. (2012). Serological diagnosis of *Strongylus vulgaris* infection. *Journal of Equine Veterinary Science*, Volume 32, Issue 10, Supplement, S29–S30
- Balán, F. A., Uzal, D. G., Riádigos, S. M., Malagón, J. A., Lago, P., Vázquez, M. S., Suárez, J. L., Sanchís, J. & Madeira de Carvalho, L. M. (2014). Incorporación de esporas de hongos en pienso para el control de nematodos gastrointestinales en equinos. *Pastagens e Forragens*, vol. 34, p. 35-45
- Becher, A. M., Mahling, M., Nielsen, M. K., Pfister K. (2010). Selective anthelmintic therapy of horses in the Federal states of Bavaria (Germany) and Salzburg (Austria): An investigation into strongyle egg shedding consistency. *Veterinary Parasitology*, 171, 116–122
- Bell, R. P., Reed, S. K. & Messer, N. T. (2015). Successful surgical management of abdominal abscessation secondary to *Strongylus edentatus* migration. *Equine Veterinary Education*. Doi: 10.1111/eve.12333
- Bellaw, J. L. & Nielsen, M. K. (2015). Evaluation of Baermann apparatus sedimentation time on recovery of *Strongylus vulgaris* and *S. edentatus* third stage larvae from equine coprocultures. *Veterinary Parasitology*, Volume 211, Issues 1–2, 30 June, 99–101
- Blanek, M., Brady, H. A., Nichols, W. T., Hutcheson, D. P., Jackson, S. P., Pond, K. R. & Wilson, K. R. (2006). Investigation of anthelmintic resistance and deworming regimens in horses. *The Professional Animal Scientist*, 22:346–352
- Botelho, F., Silva, C., Cruz, F., (2009). Epidemiologia explicada – Análise de Sobrevivência. *Acta Urológica*, 26; 4: 33-38
- Bowman, D. D. (2014). *Georgis' parasitology for Veterinarians*. (10th Edition). St. Louis: Elsevier Saunders
- Braga, F. R., Araújo, J. V. de, Carvalho, R. O., Araujo, J. M., Silva, A. R. & Campos, A.K. (2009). Controle in vitro de larvas infectantes de *Cyathostomum* (Nematoda: Cyathostominae) de equinos utilizando os fungos predadores *Duddingtonia flagrans*, *Monacrosporium thaumasium* e *Arthrobotrys robusta*. *Ciência Animal Brasileira*, jul./set., v. 10, n. 3, p. 887-892
- Bracken, M.K., Wøhlk, C.B.M., Petersen, S.L. & Nielsen, M.K. (2012). Evaluation of conventional PCR for detection of *Strongylus vulgaris* on horse farms. *Veterinary Parasitology* 184, 387– 391
- Bush, A. O., Lafferty, K. D., Lotz, J. M. & Shostak, A. W. (1997). Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al revisited. *J. Parasitol.*, 83 (4), p. 575-583

Cavalo Garrano, Candidatua a património nacional. História. Acedido em Agosto de 2015. Disponível em: <http://garrano.ipvc.pt/index.php?section=2>

Chapman , M.R., French , D.D., Monahan , C.M. & Klei, T.R. (1996). Identification and characterization of a pyrantel pamoate resistant cyathostome population. *Veterinary Parasitology*, 66, 205-212

Cernea, M. Cozma, V., Madeira de Carvalho, L.M., Cernea, L. & Sas, C. (2004). Evaluation of egg hatch assay for detection and risk analyses of antihelmintic resistance in strongylid nematodes of horses. *Scientia Parasitologica*, 1-2, 175-179

Coles, G. C., Bauer, C., Borgsteede, F. H., Geerts, S., Klei, T. R., Taylor, M. A. & Waller, P. J. (1992). World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Veterinary Parasitology* , 44, pp. 35-44.

Coles, G. C., Jackson, F., Pomroy, W. E., Prichard, R. K., Samson-Himmelstjerna, G., Silvestre, A., Taylor, M. A. & Vercruysse, J. (2006). The detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Veterinary Parasitology*, APRIL, 136(3-4):167-85 .

Collas, C., Fleurance, G., Cabaret, J., Martin-Rosset, W., Wimel, L., Cortet, J. & Dumont, B. (2014). How does the suppression of energy supplementation affect herbage intake, performance and parasitism in lactating saddle mares?. *Animal*, 8:8, pp 1290–297, © The Animal Consortium 2014

Costa, A. J., Arantes, G. J., Barbosa, O. F., Vasconcelos, O. T., Pereira, J. R., & Paulillo, A. C. (1995). Activity of a paste containing albendazole and trichlorphon against small strongyles (cyathostominae) and other equine parasites. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 4, 2, 99-103

Couto, M. C. M., Quinelato, S., Souza, T. M., Santos, C. N., Bevilaqua, C. M. L., Anjos, D. H. S., Sampaio, I. B. M. & Rodrigues, M. L. A. (2009). Desenvolvimento e migração de larvas infectantes de *Cyathostomum* (Nematoda: Cyathostominae) em graminha coast cross (*Cynodon dactylon*) em clima tropical, na Baixada Fluminense, RJ, *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, v. 18, n. 2, p. 31-37

Couto, M.C.M., Quinelato, S., Santos, C.N., Souza, L.S Sampaio, I.B.M. & Rodrigues, M.L.A. (2008). Environmental influence in cyathostominae ecology. *Veterinarni Medicina*, 53, 243–249

Corning, S. (2009). Equine cyathostomins: a review of biology, clinical significance and therapy. *Parasites & Vectors*, 2-S1. DOI:10.1186/1756-3305-2-S2-S1

Craig, T. M., Diamond, P. L., Ferwerda, N. S. & Thompson, J. A. (2007). Evidence of Ivermectin Resistance by *Parascaris equorum* on a Texas Horse Farm. *Journal of Equine Veterinary Science*, 27(2): 67-71.

Crane, M. A, Khallaayoune K., Scantlebury, C. & Christley, R. M. (2011). A randomized triple blind trial to assess the effect of an anthelmintic programme for working equids in Morocco. *BMC Veterinary Research*, 7:1

Cutolo, A. A., Santos, A. T. & Allegretti, S. M. (2011). Field study on the efficacy of an oral 2% ivermectin formulation in horses. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, v. 20, n. 2, p. 171-175

DiPietro, J. A., Klei, T. & Reinemeyer, C. (1997). Efficacy of fenbendazole against encysted Small Strongyle Larvae. *AAEP Proceedings*, Vol. 43, 343

- Doorn, D.C.K., Eysker, M., Kooyman, F.N.J., Wagenaar, J.A. & Ploeger, H.W. (2012). Searching for ivermectin resistance in Dutch horses. *Veterinary Parasitology*, 185, 355– 358
- Equest, 2016. Zoetis, Portugal. Acedido em fevereiro de 2016. Disponível em: <http://www.zoetis.com.pt/produtos/equinos/equest.aspx#>
- Eysker, M., Bakker, J., Berg, M. van den, Doorn, D.C.K. & Ploeger, H.W. (2008). The use of age-clustered pooled faecal samples for monitoring worm control in horses. *Veterinary Parasitology*, 151, 249–255
- Fernandes, L.H., Seno, M.C.Z., Amarante, A.F.T., Souza, H. & Belluzo, C.E.C. (2004). Efeito do pastejo rotacionado e alternado com bovinos adultos no controle da verminose em ovelhas. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 56(6), 733-740
- Ferraro, C. C., Kloss, A. B., Souza, D. F., Deconto, I., Biondo, A. W. & Molento, M. B. (2008). Prevalência parasitológica de cavalos de carroceiros em Curitiba, Paraná. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 17, Supl. 1, 175-177
- Fog, P., Vigre, H & Nielsen, M. K. (2011). Strongyle egg counts in Standardbred trotters: Are they associated with race performance?. *Equine Veterinary Journal*, 43, (Suppl. 39), 89-92
- Foreyt, W. L. (2001). *Veterinary Parasitology, Reference Manual*. (Fifth Edition). Iowa: Iowa State Press
- Fundação Côa Parque (2015). Gravuras. Acesso em Junho de 2015. Disponível em: www.arte-coa.pt/index.php?Language=pt&Page=Gravuras&SubPage=ArteRupestre&Sito=12
- Georgi, J.R. (1982). *Parasitologia Veterinária*, 3ª edição, Editora Interamericana, Rio de Janeiro.
- Gersão, S. G. (2010). *Controlo da ciatostominose equina: uma abordagem integrada*. Tese de dissertação de Mestrado. Coimbra: Faculdade de Medicina- Universidade de Coimbra
- Geurden, T., Doorn, D., Claerebout, E., Kooyman, F., Keersmaecker, S., Vercruysse, J., Besognet, B., Vanimisetti, B., Regalbono, A. F., Beraldo, P., Cesare, A., Traversa, D. (2014). Decreased strongyle egg re-appearance period after treatment with ivermectin and moxidectin in horses in Belgium, Italy and The Netherlands. *Veterinary Parasitology*, 204, 291–296
- Gomez, H. H. & Georgi, J. R. (1991). Equine helminth infections: Control by selective chemotherapy. *Equine Veterinary Journal*, 23(3):198- 200
- Gonçalves, S., Julliand, V. & Leblond, A. (2002). Risk factors associated with colic in horses. *Veterinary Research*, 33 641–652
- Guimarães, M. P., Costa, H. M. A. & Costa, J. O. (1992). Scanning electron microscopy of lesions caused by *Strongylus vulgaris* in the intestinal wall of the horse. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 1, 2, 81-83
- Hearn, F. P. & Peregrine, A. S. (2003). Identification of foals infected with *Parascaris equorum* apparently resistant to ivermectin. *JAVMA*, Vol 223, n.º 4, 482-485
- História da Arte Portuguesa- Pré História (2015). A arte paleolítica. Acedido em Junho de 2015. Disponível em: www.pre-historia-portugal.weebly.com/a-arte-paleoliacutetica.html

- Hodgkinson, J. E. (2008). Cyathostomosis: Epidemiology and control. *Proceedings of the 47th British Equine Veterinary Association Congress- Liverpool, United Kingdom*
- INE (2014). Instituto Nacional de Estatística: Recenseamento Agrícola 2009. Acedido em Agosto de 2015. Disponível em: https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_publicacoes&PUBLICACOESpub_bo ui=119564579&PUBLICACOESmodo=2
- Ionita, M., Howe, D. K., Lyons, E. T., Tolliver, S. C., Kaplan, R. M., Mitrea, I. L. & Yeargan, M. (2010). Use of a reverse line blot assay to survey small strongyle (*Strongylida*:*Cyathostominae*) populations in horses before and after treatment with ivermectin. *Veterinary Parasitology*, 168, 332–337
- Instituto Português do Mar e da Atmosfera (2015). Instituto Português do Mar e da Atmosfera Acedido em Setembro de 2015. Disponível em: <http://www.ipma.pt/pt/publicacoes/boletins.jsp?cmbDep=agr&idDep=agr&idTema=&curAno=-1>
- Jabbar, A., Littlewood, D. T., Mohandas, N., Brisco, A. G., Foster, P. G., Müller, F., Samson-Himmelstjerna, G., Jex, A.R. & Gasser, R.B. (2014). The mitochondrial genome of *Parascaris univalens*- implications for a "forgotten" parasite. *Parasites & Vectors*, 7:428.
- Janssen, I., Krücken, J., Demeler, J. & Samson-Himmelstjerna, G. (2015). Transgenically expressed *Parascaris* P-glycoprotein-11 can modulate ivermectin susceptibility in *Caenorhabditis elegans*. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance*, 5, 44–47
- Kaufmann, J. (1996). Parasites of Horses and Donkeys. In *Parasitic infections of domestic animals a diagnostic manual*. (pp 209-218). Basel: Birkhauser
- Kolk, J. H. & Kroeze, E. J. B. (2013). *Infectious Diseases of the horse*, Diagnosis, pathology, management and public health. (pp 236-252) London: Manson Publishing
- Kaplan, R. M. (2004). Drug resistance in nematodes of veterinary importance: a status report. *Trends in Parasitology*, Vol. 20 No.10, October
- Kaplan, R. M. & Nielsen, M. K. (2010). An evidence-based approach to equine parasite control: It ain't the 60's anymore. *Equine Veterinary Education*, 22 (6), 306-316
- Klei, T.R., Rehbein, S., Visser, M., Langholff, W.K., Chapman, M.R., French, D.D. & Hanson, P. (2001). Re-evaluation of ivermectin efficacy against equine gastrointestinal parasites. *Veterinary Parasitology*, 98, 315–320
- Kolar, L. & Eržen, N. K. (2006). Veterinary parasitocides– are they poisoning an environmental risk?, Pharmacological properties, Avermectins. *Slov Vet Res*, 43 (2): 85-96
- Koudela, B. & Bodecek, S. (2006). Effects of low and high temperatures on viability of *Parascaris equorum* eggs suspended in water. *Veterinary Parasitology*, 142, 123–128
- Kuzmina, T. A. & Kharchenko, V.O. (2008). Anthelmintic resistance in cyathostomins of brood horses in Ukraine and influence of anthelmintic treatments on strongylid community structure., *Veterinary Parasitology*, 154, 277–288
- Kuzmina, T. A., Lyons, E. T., Tolliver, S. C., Dzeverin, I. I. & Kharchenko, V. A. (2012). Fecundity of various species of strongylids (Nematoda: Strongylidae)—parasites of domestic horses. *Parasitology Research*, 111:2265–2271

- Kyvsgaard, N. C., Lindbom, J., Andreasen, L. L., Adilia, L., Olivares, L., Nielsen, M. K. & Monrad, J. (2011). Prevalence of strongyles and efficacy of fenbendazole and ivermectin in working horses in El Sauce, Nicaragua. *Veterinary Parasitology*, 181, 248–254
- Lake, S. L., Matthews, J.B., Kaplan, R.M. & Hodgkinson, J.E. (2009). Determination of genomic DNA sequences for beta-tubulin isotype 1 from multiple species of cyathostomin and detection of resistance alleles in third-stage larvae from horses with naturally acquired infections, Background. *Parasites & Vectors*, 2(Suppl 2):S6
- Larsen, M. L., Ritz, C., Petersen, S. L. & Nielsen, M. K. (2010). Determination of ivermectin efficacy against cyathostomins and *Parascaris equorum* on horse farms using selective therapy. *The Veterinary Journal*, 188(1):44-7
- Laugier, C., Sevin, C., Ménard, S. & Maillard, K. (2012). Prevalence of *Parascaris equorum* infection in foals on French stud farms and first report of ivermectin-resistant *P. equorum* populations in France. *Veterinary Parasitology*. 188,185–189
- Lester, H. E., Bartley, D. J., Morgan, E. R., Hodgkinson, J. E., Stratford, C. H. & Matthews, J. B. (2013). A cost-comparison of faecal egg count-directed anthelmintic delivery versus interval programme treatments in horses. *Veterinary Record*, 173, 371-374.
- Lichtenfels, J. R., Kharchenko, V. A., Kuzmina, T. A. & Krecek, R. C. (2005). Differentiation of *Cylicocyclus gyalcephaloides* of *Equus burchelli* from *Cylicocyclus insigne* of *Equus caballus* (Strongyloidea: Nematoda). *Comparative Parasitology*, 72(1), pp. 108–115
- Lindgren, K., Ljungvall, O., Nilsson, O., Ljungstro, B. L., Lindahl, C. & Hoglund, J. (2008). *Parascaris equorum* in foals and in their environment on a Swedish stud farm, with notes on treatment failure of ivermectin. *Veterinary Parasitology*, 151, 337–343
- Little, D., Flowers, J. R., Hammerberg, B. H. & Gardner, S. Y. (2003). Management of drug-resistant cyathostomiasis on a breeding farm in central North Carolina. *Equine Veterinary Journal*, 35 (3) 246-251
- Lyons, E. T., Tolliver, S. C., Ionita, M. & Collins, S. S. (2008). Evaluation of parasitocidal activity of fenbendazole, ivermectin, oxi-bendazole, and pyrantel pamoate in horse foals with emphasis on ascarids (*Parascaris equorum*) in field studies on five farms in Central Kentucky in 2007. *Parasitology Research*, 103:287–291
- Lyons, E. T., Tolliver, S. C. & Kuzmina, T. A. (2012). Investigation of strongyle EPG values in horse mares relative to known age, number positive, and level of egg shedding in field studies on 26 farms in Central Kentucky (2010–2011). *Parasitology Research*, 110:2237–2245
- Lyons, E.T., Tolliver, S.C., Ionita, M., Lewellen, A. & Collins, S.S. (2008a). Field studies indicating reduced activity of ivermectin on small strongyles in horses on a farm in Central Kentucky. *Parasitology Research*, 103, 209-215.
- Lyons, E. T., Tolliver, S. C., Kuzmina, T. A. & Collins, S. S. (2011). Further evaluation in field tests of the activity of three anthelmintics (fenbendazole, oxi-bendazole, and pyrantel pamoate) against the ascarid *Parascaris equorum* in horse foals on eight farms in Central Kentucky (2009–2010). *Parasitology Research*, 109:1193–1197
- Lyons, E. T., Tolliver, S. C., Kuzmina, T. A., Dzeverin, I. I., Nielsen, M. K. & McDowell, K. J. (2014). *Veterinary Parasitology*, Volume 205, Issues 3–4, 15 October, 646–652

Madeira de Carvalho, L.M. (2001). *Epidemiologia e controlo da estrongilidose em diferentes sistemas de produção equina em Portugal*. Tese de dissertação de doutoramento. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária – Universidade Técnica de Lisboa

Madeira de Carvalho, L.M. (2006). Os equídeos em Portugal: de animais de produção a animais de companhia, I – Impacto nas doenças parasitárias. *Revista de Medicina Veterinária*, 62, 13-24.

Madeira de Carvalho, L. M., Fazendeiro, M. I. & Afonso-Roque, M. M. (2004). Estudo morfométrico das larvas infectantes (L3) dos estrongilídeos (Nematoda: Strongyloidea) dos equídeos - 1. Género *Cyathostomum* s.l.. *Acta Parasitológica Portuguesa*, 11 (1-2): 23-32

Madeira de Carvalho, L. M., Fazendeiro, M. I. & Afonso-Roque, M. M. (2007a). Estudo morfométrico das larvas infectantes (L3) dos estrongilídeos (Nematoda: Strongylidae) dos equídeos- 2. Géneros *Gyalocephalus*, *Poteriostomum*, *Craterostomum*, *Oesophagodontus*, *Triodontophorus*, *Strongylus* e *Trichostrongylus*. *Acta Parasitológica Portuguesa*, 14 (1-2): 23-34.

Madeira de Carvalho, L. M., Gomes, L., Cernea, L., Cernea, M., Santos, C. A., Bernardes, N., Rosário, M. A., Soares, M. J., Fazendeiro, I. (2007b). Parasitismo gastrointestinal e seu controlo em asininos e híbridos estabulados. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, 102 (563-564), 225-231

Madeira de Carvalho, L. M. (2008a). Os equídeos em Portugal: De animais de produção a animais de companhia, Implicações no diagnóstico e controlo de parasitoses gastrointestinais. *Revista de Medicina Veterinária*, nº 63, março

Madeira de Carvalho, L. M., Fazendeiro, M. I. & Afonso-Roque, M. M. (2008b). Estudo morfométrico das larvas infectantes (L3) dos estrongilídeos (Nematoda: Strongylidae) dos equídeos- 3. Conclusões, perspectivas futuras e proposta de chave de identificação de alguns nemátodes gastrintestinais mais comuns dos equídeos em Portugal. *Acta Parasitológica Portuguesa*, 15 (2): 59 - 65.

Martins, I. V. F., Pereira, M. J. S., Grisi, L. & Scott, F. B. (2005). Seasonal abundance of equine strongyles (Nematoda: Strongylidae) in the State of Rio de Janeiro, Brazil. *Veterinary Medicine, Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, Vol.57, n.º1, Belo Horizonte

Matthews, J. B. (2014). Anthelmintic resistance in equine nematodes. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance*, 4, 310–315

Matthews, J. & Lester, H. (2015). Control of equine nematodes: making the most of faecal egg counts. In Practice. Acesso a 22 de Novembro de 2015. Disponível em: URL: <http://inpractice.bmj.com/content/37/10/540.full.pdf+html>

Medeiros, A.C. Gomes, L., Nunes, T.P. Tilley, P. A. Sales Luís, J. P. Madeira De Carvalho, L.M. (2011) Relação entre a estrongilidose e as doenças alérgicas (Obstrução Recorrente das Vias Aéreas (ORVA), dermatite atópica e hipersensibilidade à picada de insectos) em equídeos em Portugal. *Acta Parasitológica Portuguesa*, 18 (1/2), 91-98.

Melo-Franco, B. (2014). *Epidemiologia e controlo de helmintes intestinais em éguas e poldros purosangue lusitano em regime de manejo extensivo no ribatejo e no baixo alentejo*. Tese de mestrado integrado em medicina veterinária. (pp. 86-130). Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária – Universidade de Lisboa

Melo-Franco, B., Alho, A. M., Calero-Bernal, R. & Madeira De Carvalho, L. M. (2015). Principales parasitosis intestinales. Métodos simples y prácticos de diagnóstico laboratorial en équidos. *Revista Argos*, Nº 167, 64-69

- Menzies-Gow, N. (2008). Cyathostomiasis: Diagnosis and treatment. *Proceedings of the 47th British Equine Veterinary Association Congress*- Liverpool, United Kingdom
- Monahan, C. M., Chapman, M. R., Taylor, H. W., French, D. D. & Klei, T. R. (1996). Comparison of moxidectin oral gel and ivermectin oral paste against a spectrum of internal parasites of ponies with special attention to encysted cyathostome larvae. *Veterinary Parasitology*, 63, 225-235
- Monteiro, J. (1983), O Cavalo Lusitano - Contributo para o seu estudo. *Boletim Pecuário*, 49, 1-205.
- Näreaho, A., Vainio, K. & Oksanen, A. (2011). Impaired efficacy of ivermectin against *Parascaris equorum*, and both ivermectin and pyrantel against strongyle infections in trotter foals in Finland. *Veterinary Parasitology*, Volume 182, Issues 2– 4, 372–377
- Nascimento, A., Marchesan, A. L., Xavier, B., Faria, F., Almeida, K. & Sato, M. (2008). Ocorrência de nematóides em equídeos na região norte do estado do tocanins. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 17, Supl. 1, 178-181
- Nielsen, M. K. (2009). Restrictions of anthelmintic usage: perspectives and potential consequences proceedings. *Parasites & Vectors*, 2(Suppl 2):S7
- Nielsen, M.K. (2012). Sustainable equine parasite control: Perspectives and research needs. *Veterinary Parasitology* ,185 ,32– 44
- Nielsen, M K. (2015). Universal challenges for parasite control: a perspective from equine parasitology. *Trends in Parasitology*, Vol. 31, No. 7
- Nielsen, M. K., Baptiste, K. E., Tolliver, S. C., Collins, S. S. & Lyons, E. T. (2010). Analysis of multiyear studies in horses in Kentucky to ascertain whether counts of eggs and larvae per gram of feces are reliable indicators of numbers of strongyles and ascarids present. *Veterinary Parasitology*, Volume 174, Issues 1–2, 24, 77–84
- Nielsen, M. K., Fritzen, B., Duncan, J. L., Guillot, J., Eysker, M., Dorchies, P., Laugier, C. Beugnet, F. Meana, A., Lussot-Kervern, I. & Von Samson-Himmelstjerna, G. (2010a). Practical aspects of equine parasite control: A review based upon a workshop discussion consensus. *Equine Veterinary Journal*, 42 (5), 460-468. Doi: 10.1111/j.2042-3306.2010.00065.x
- Nielsen, M. K., Haaning, N., Olsen, S. N. (2006). Strongyle egg shedding consistency in horses on farms using selective therapy in Denmark. *Veterinary Parasitology*, 135, 333-335
- Nielsen, M. K., Jacobsen, S., Olsen, S. N., Bousquet, E. & Phil, T. (2015a). Non strangulating intestinal infarction associated with *Strongylus vulgaris* in referred Danish equine cases. *Equine Veterinary Journal*, March. Doi:10.1111/evj.12422
- Nielsen, M. K., Kaplan, R. M., Monrad, J. Thamsborg, S.M., Olsen, S.N. (2007). Climatic influences on development and survival of free-living stages of equine strongyles: Implications for worm control strategies and managing anthelmintic resistance. *The Veterinary Journal*, 174, 23–32
- Nielsen, M. K. Monrad, J. & Olsen, S. N. (2006). Prescription-only anthelmintics—A questionnaire survey of strategies for surveillance and control of equine strongyles in Denmark. *Veterinary Parasitology*, 135, 47–55

- Nielsen, M. K., Olsen, S.N., Lyons, E.T., Monrad, J. & Thamsborg, S.M. (2012). Real-time PCR evaluation of *Strongylus vulgaris* in horses on farms in Denmark and Central Kentucky. *Veterinary Parasitology*, Volume 190, Issues 3–4, 461–466
- Nielsen, M. K., Pfister, K. & Samson-Himmelstjerna, G. (2014). Selective therapy in equine parasite control—Application and limitations. *Veterinary Parasitology*, 202, 95–103
- Nielsen, M. K., Vidyashankar, A. N., Bellaw, J., Gravatte, H. S., Cao, X., Robinson, E. F. & Reinemeyer, C. R. (2015b). Serum *Strongylus vulgaris*-specific antibody responses to anthelmintic treatment in naturally infected horses. *Parasitology Research*, 114(2):445-51
- Nielsen, M.K., Vidyashankar, A.N., Olsen, S.N., Monrad, J. & Thamsborg, S. M. (2012). *Strongylus vulgaris* associated with usage of selective therapy on Danish horse farms—Is it reemerging?. *Veterinary Parasitology*, Volume 189, Issues 2–4, 260–266
- Nielsen, M. K., Wang, J., Davis, R., Bellaw, J. L., Lyons, E.T., Lear, T. L. & Goday, C. (2014a). *Parascaris univalens*-A victim of large-scale misidentification. *Parasitology Research*, 113: 4485-4490
- Ortlepp, R. J. (1925). Observations on the life history of *Triodontophorus tenuicollis*, a nematode parasite of the horse. *Journal of Helminthology*, Volume 3, Issue 01, 1-14
- Peregrine, A. S. (2005). Les programmes de vermifugation des chevaux: faisons-nous plus de mal que de bien?. *La médecine vétérinaire des grands animaux*, Volume 5, n°6
- Pereira, J. R. & Vianna, S. S. S. (2006). Gastrointestinal parasitic worms in equines in the Paraíba Valley, State of São Paulo, Brazil. *Veterinary Parasitology*, 140, 289–295
- Pereira, J. R. & Vianna, S. S. S. (2008)- Ecological aspects of small strongylids in the Paraíba Valley Region, State of São Paulo, Brazil. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.38, n.8, 2264-2270
- Peregrine, A.S., Molento, M.B., Kaplan, R.M. & Nielsen, M.K. (2014). Anthelmintic resistance in important parasites of horses: does it really matters? *Veterinary Parasitology*, 201 (1-2), 1-8.
- Pilo, C., Altea, A., Pirino, S., Nicolussi, P., Varcasia, A. Genchi, M. & Scala, A., (2012). *Strongylus vulgaris* (Looss, 1900) in horses in Italy: Is it still a problem?. *Veterinary Parasitology*, 184, 161– 167
- Quiroz, H. (2005). Nematelmintos y acantocéfalos. In *Parasitología y enfermedades parasitarias de animales domésticos*. (pp. 491-493). Balderas: Limusa Noriega Editores
- Reinemeyer, C. R. (2009). Controlling Strongyle Parasites of Horses: A Mandate for Change. *AAEP Proceedings*, Vol. 55, 352-360
- Reinemeyer, C. R. (2009b). Diagnosis and control of anthelmintic-resistant *Parascaris equorum*. *Parasites & Vectors*, 2(Suppl 2):S8
- Reinemeyer, C. R. & Nielsen, M. K. (2013). *Handbook of Equine Parasite Control*. Iowa: Wiley-Blackwell
- Reinemeyer, C. R. & Nielsen, M. K. (2016). Control of helminth parasites in juvenile horses-*Equine Veterinary Education*. DOI: 10-1111/eve.12541
- Reinemeyer, C. R., Prado, J. C., Andersen, U. V., Nielsen, M. K., Schrick, B. & Kennedy, T. (2014). Effects of daily pyrantel tartrate on strongylid population dynamics and

performance parameters of young horses repeatedly infected with cyathostomins and *Strongylus vulgaris*. *Veterinary Parasitology*, Volume 204, Issues 3–4, 229–237

Reis, P.M.C. (2011). *Epidemiologia e Controlo do Parasitismo Gastrintestinal em Éguas e seus Poldros*. Tese de mestrado integrado em medicina veterinária. (pp. 65- 99). Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária- Universidade Técnica de Lisboa

Relf, V. E., Lester, H. E., Morgan, E. R., Hodgkinson, J. E. & Matthews, J. B. (2014). Anthelmintic efficacy on UK Thoroughbred stud farms. *International Journal for Parasitology*, 44, 507–514

Roberts, F. H. S., O'Sullivan, P. J. (1950) - Methods for egg counts and larval cultures for strongyles infesting the gastro-intestinal tract of cattle. *Australian Journal of Agricultural Research*, 1 (1), pp. 99-102.

Robert, M., HU, W., Nielsen, M. K. & Stowe, C. J. (2014), Attitudes towards implementation of surveillance-based parasite control on Kentucky Thoroughbred farms – Current strategies, awareness and willingness-to-pay. *Equine Veterinary Journal*, DOI: 10.1111/evj.12344

Rózsa, L., Reiczigel, J. & Majoros, G. (2000). Quantifying parasites in samples of hosts. *Journal of Parasitology*, 86(2), 228–232

Saeed, K., Qadir, Z., Ashraf, K. & Ahmad, N. (2010). Role of intrinsic and extrinsic epidemiological factors on strongylosis in horses. *The Journal of Animal & Plant Sciences*, 20(4): 277-280

Sellon, D. C. & Long, M. (2013). Nematodes. In *Equine Infectious Diseases* (2nd Ed.). (pp. 476- 477). St. Louis: Elsevier

Schneider, S., Pfister, K., Becher, A. M. & Scheuerle, M. C. (2014). Strongyle infections and parasitic control strategies in German horses - a risk assessment. *BMC Veterinary Research*, 10:262

Stratford, C. H., Lester, H. E., Pickles, K. J., McGorum, B. C. & Matthews, J. B. (2014). An investigation of anthelmintic efficacy against strongyles on equine yards in Scotland. *Equine Veterinary Journal*, 46, 17–24

Stratford, C. H., McGorum, B. C., Pickles, K. J. & Matthews, J. B. (2011). An update on cyathostomins: Anthelmintic resistance and diagnostic tools. *Equine Veterinary Journal*, 43 (Suppl. 39), 133-139

Studzinska, M. B., Tomczuk, K., Demkowska-Kutrzepa, M. & Szczepaniak, K. (2012). The Strongylidae belonging to *Strongylus* genus in horses from southeastern Poland. *Parasitology Research*, 111:1417–1421

Tarazona Vilas, J. M ., (1992), Estrongilidosis causadas por grandes y pequenos estrôngilos. In A. R. M., Fernández, C. S., Acedo, S. H., Rodríguez, I. N., López-Cozar, P. D., Baños, H. Q., Romero & M., C., Varela, *Parasitologia Veterinária*. (pp. 559-560). Madrid: McGraw-Hill, Interamericana, ISBN: 8448602366

Teixeira, W., et al. (2014). Endoparasites of horses from the Formiga city, located in center-west region of the state of Minas Gerais, Brazil. *Braz. J. Vet. Parasitol.*, Jaboticabal, v. 23, n. 4, p. 534-538

Tesfu, N., Asrade, B., Abebe, R. & Kasaye, S. (2014). Prevalence and Risk Factors of Gastrointestinal Nematode Parasites of Horse and Donkeys in Hawassa Town, Ethiopia. *Journal of Veterinary Science and Technology*, 5:5

Thienpoint, D., Rochette, F. & Vanparijs, O.F.J. (1986). *Diagnóstico de las helminthiasis por medio del examen coprológico*, (2ª edição). Beerse: Janssen Research Foundation

Toguchi, M. & Chinone, S. (2005). Evaluation of the efficacy of oral paste formulations of ivermectin against gastrointestinal parasites in horses. *Journal of Equine Science*, Vol. 16, No. 4, pp.105-110

Traversa, D., Iorio, R., Klei, T. R., Kharchenko, V. A., Gawor, J., Otranto, D. & Sparagano, O. A. E. (2007). New method for Simultaneous species-specific identification of equine Strongyles (Nematoda, Strongylida) by Reverse Line Blot Hybridization. *Journal of Clinical Microbiology*, Vol. 45, No. 9, p. 2937–2942

Traversa, D., Kuzmina, T., Kharchenko, V. A., Iorio, R., Klei, T. R. & Otranto, D. (2008). Haplotypic variability within the mitochondrial gene encoding for the cytochrome c oxidase 1 (cox1) of *Cylicocyclus nassatus* (Nematoda, Strongylida): Evidence for an affiliation between parasitic populations and domestic and wild equid hosts. *Veterinary Parasitology*, 156, 241–242

Urquhart, G.M., Armour, J., Duncan, J.L., Dunn, A.M. & Jennings, F.W. (1996). *Parasitologia veterinária*, (2ª ed.). Oxford: Blackwell Science Limited, 37-41

von Samson-Himmelstjerna, G., Fritzen, B., Demeler, J., Schurmann, S., Rohn, K., Schnieder, T. & Epe, C. (2007). Cases of reduced cyathostomin egg-reappearance period and failure of *Parascaris equorum* egg count reduction following ivermectin treatment as well as survey on pyrantel efficacy on German horse farms. *Veterinary Parasitology*, 144, 74-80

Zajac, A.M. & Conboy, G.A. (2006). *Veterinary Clinical Parasitology*, 7ª edição. Blackwell Publishing, 305

Zoology 316: General Parasitology (2012). *Strongylus vulgaris*. Acedido em Setembro de 2015. Disponível em: www.msu.edu/~rmorning/images/life%20cycles/strongylus_vulgaris_life_cycle.gif

6. ANEXOS

6.1. Anexo 1- Chave de identificação de L3 nas coproculturas

(Adaptado de Madeira de Carvalho, Fazendeiro & Afonso-Roque, 2004; 2007a; 2008)

1. Larvas sem bainha 2
- Larvas com bainha..... 3
2. Larvas com boca visível, esófago rãbitiforme, presença de machos, fêmeas e ovos no mesmo campo..... **Nematóides de vida livre**
- Esófago filariforme com $>1/3$ do comprimento do corpo, cauda termina em forma de “V” ***Strongyloides westeri***
3. Cauda da bainha muito curta, 80 a 115 μm do ânus a extremidade posterior da bainha, não apresentando forma de chicote, com comprimento total médio de 738 μm
- Trichostrongylus axei***
- Cauda da bainha comprida ($<175 \mu\text{m}$) e em forma de chicote..... 4
4. Larvas com 6 a 9 células intestinais de arranjo variável e com comprimentos totais médios de 773 a 886 μm 5
- Larvas de tamanho pequeno a grande com mais de 9 células Intestinais e comprimentos totais médios de 731 a 992 μm 9
5. Larvas de tamanho médio com 8 células intestinais de arranjo e forma bem definidos. Comprimentos totais médios entre 812 e 848 μm . *Cyathostomum sensu latum* tipos A, B, C e D).....
- 7
- Larvas de tamanho médio a grande com 6 a 9 células intestinas de arranjo e forma não definidas. Comprimentos totais médios de 773 a 886 μm (*Cyathostomum sensu latum* tipos E, F, G e H)..... 8

6.	Larvas com 16 células intestinais.....	10
	Larvas com 18 a 20 células intestinais.....	11
	Larvas com 20 células intestinais.....	12
7.	Larvas com as 2 primeiras células intestinas dispostas em fila dupla, de forma triangular ou retangular, justapostas, e as restantes de formato retangular ou trapezoidal em fila única. Comprimento total médio de 812 µm. (Cyathostomum spp. tipo A).....	Cylicocyclus insigne;
		Cylicoc. Nassatus;
		Cylicoc. Radiatus;
		Cylicostephanus minutus;
		Cylicost. Longibursatus;
		Cyathostomum catinatum;
		Cyath. Pateratum;
		Petrovinema poculatum.
	Larva com 8 células, de formato triangular alongado e estreito ou, por vezes, pentagonal, arranjadas em fila dupla. Comprimento total médio de 828 µm. (Cyathostomum spp. tipo B).....	Cylicoc. Brevicapsulatus;
		Cylicoc. Ultrajectinus;
		Cylicodontophorus bicoronatus.
	Larvas com as 4 primeiras células, de formato triangular, retangular alongada ou pentagonal, dispostas em fila dupla e as restantes trapezoidais em fila única. Comprimento total médio de 848 µm. (Cyathostomum spp. tipo C).....	Cylicost. Calicatus;
		Cylicost. hybridus
		Cylicost. Longibursatus
	Larvas com 8 células intestinais triangulares ou trapezoidais arranjadas em fila única. Comprimento total médio de 843 µm. (Cyathostomum spp. tipo D).....	Espécies não determinadas

8. Larvas com 6 células intestinais, em que as 3 primeiras, de forma triangular alongadas e estreitas, estão justapostas. As restantes células intestinais, de forma retangular ou trapezoidal, encontram-se em fila única. Comprimento total médio 773 µm. (*Cyathostomum* spp. tipo E).....

Espécies não determinadas

Larvas com 7 células intestinais, triangulares alongadas ou trapezoidais e por vezes retangulares arranjadas em fila única (de forma diversa) ou 2-4 células emparelhadas e as restantes em fila única. Comprimento total médio de 824 µm. (*Cyathostomum* spp. tipo F)..... **Espécies não determinadas**

Larvas com 8 células intestinais triangulares ou retangulares alongadas e estreitas, trapezoidais na porção distal, em arranjo diverso, Comprimento total médio de 848 µm. (*Cyathostomum* spp. tipo G)..... **Espécies não determinadas**

Larvas com 9 células intestinais, sendo as primeiras 6 triangulares ou retangulares alongadas e estreitas justapostas e as restantes de formato trapezoidal em fila única. Comprimento total médio maior de 886 µm. (*Cyathostomum* spp. tipo H)..... **Espécies não determinadas**

9. Larvas de pequena dimensão, com 12 células intestinais retangulares ou pentagonais alongadas, arranjadas em fila dupla ou 6 a 10 células intestinais, retangulares ou pentagonais, justapostas e as restantes, de formato triangular ou trapezoidal, em fila única. Comprimento total médio de 731 µm e proporção cl/pd = 2:1..... **Gyalocephalus capitatus**

10. Larvas de pequena dimensão com 16 células intestinais, retangulares ou por vezes pentagonais, nem sempre bem definidas, dispostas em fila dupla, emparelhadas. Comprimento total médio de 786 µm, largura de 28 µm e proporção cl/pd = 2,1:1..... **Poteriostomum spp.**

Larvas de grande dimensão e intestino longo (415 µm) com 16 células intestinais grandes, bem definidas, com formato triangular ou por vezes pentagonal alongado, arranjadas em fila dupla. Comprimento total médio de 992 µm, largura de 35 µm. proporção cl/pd = 2,4:1..... **Oesophagodontus robustus**

Larvas de grande dimensão, com 16 células intestinais de formato retangular e pentagonal, nas células proximais que se encontram justapostas, e triangular alongado e pentagonal nas células terminais em posição intermédia ou com uma única célula terminal. Comprimento total médio de 862 μm , largura média de 29 μm . proporção cl/pd = 1,8:1..... ***Craterostomum acuticaudatum***

Larvas de grande dimensão com 16 células intestinais, estando as proximais, de formato retangular alongado, emparelhadas em fila dupla assimetricamente e as distais, pentagonais e assimétricas, uma com metade do comprimento da outra mas com terminação ao mesmo nível. Comprimento total médio de 907, largura de 30 μm , proporção cl/pd = 2,1:1 e proporção cl/pd = 1,7:1..... ***Triodontophorus serratus***

Larvas de grande dimensão e finas, com 16 células intestinais mal definidas, fraca distinção entre o esófago e o intestino. cauda da bainha curta e cauda da larva com um tubérculo na extremidade. Comprimento médio de 901 μm , largura média de 18 μm e proporção cl/pd = 4,1:1..... ***Strongylus equinus***

11. Larvas de pequena a média dimensão, finas com 18 a 20 células intestinais triangulares estreitas e alongadas, mal definidas e de esófago curto. Comprimento médio de 789 μm , largura média de 23 μm e proporção cl/pd 2,2:1..... ***Strongylus edentatus***

Larvas de média a grande dimensão, grossas, com 18 a 20 células intestinais bem definidas, de formato principalmente pentagonal, mas também triangular e retangular. Emparelhadas ou por vezes em posição intermédia no caso das células intestinais; esófago longo (cerca de 1/3 do comprimento do corpo da larva); nalguns espécimes a cauda da bainha é bifurcada. Comprimento médio de 834 μm e largura media de 28 μm), proporção cl/pd = 2,1:1..... ***Triodontophorus (excepto Triodontophorus serratus)***

12. Larvas de grande dimensão e grossas, com células intestinais triangulares e pentagonais bem definidas e com coloração muito escura, esófago curto. Comprimento médio de 936 μm , largura média de 32 μm e proporção cl/pd= 2,8:1..... ***Strongylus vulgaris***